

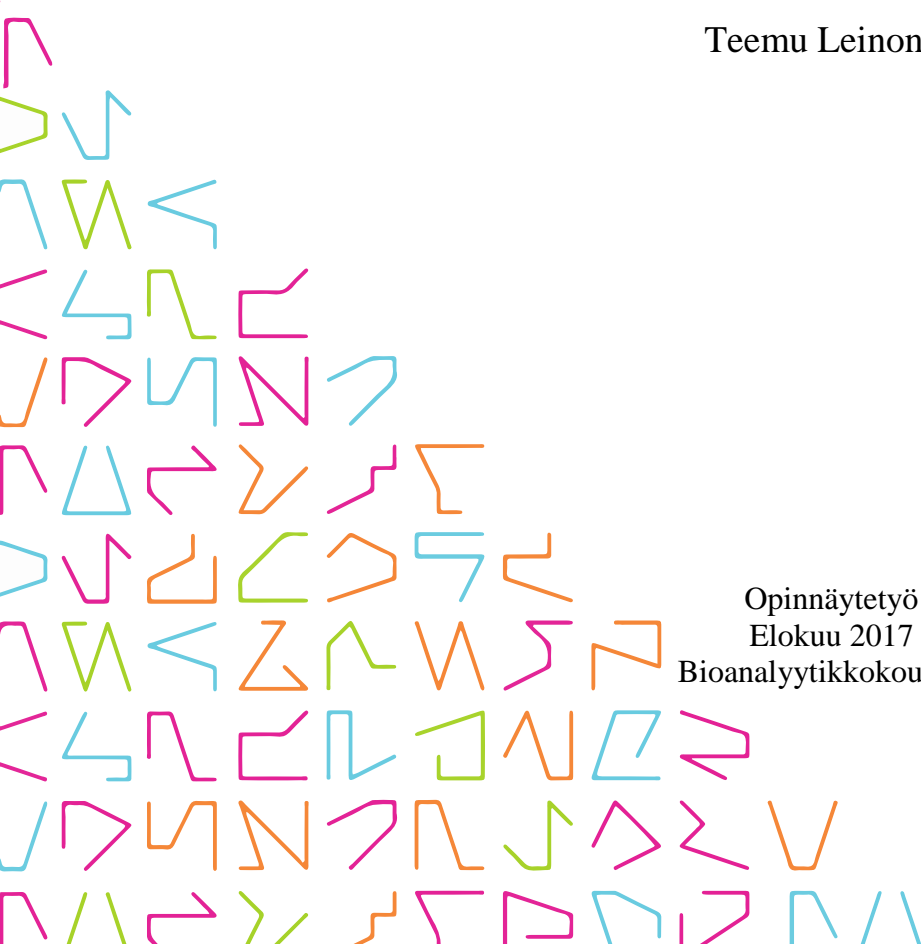


TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

VARMISTUKSEEN LÄHETETTYJEN HUUMAUSAINESEULONTOJEN TULOKSET – ONKO VÄÄRIÄ POSITIIVISIA?

Teemu Leinonen

Opinnäytetyö
Elokuu 2017
Bioanalyytikkokoulutus



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytikkokoulutus, 14BIO

LEINONEN, TEEMU:

Varmistukseen lähetettyjen huumausaineseulontojen tulokset – onko väärä positiivisia?

Opinnäytetyö 47 sivua

Elokuu 2017

Terveystieteidenhuollossa käytettävä huumetestaus tehdään tavallisesti kaksivaiheisena; ensivaiheen huume-seulontatestin positiiviset tulokset lähetetään varmistettavaksi luotettavalla varmistusanalyysillä. Vaikka ensivaiheen testi on nopeampi ja epävarmempi kuin varmistusanalyysi, voidaan terveydenhoidollisessa testauksessa perustelluista syistä ja tietyissä tilanteissa, kuten pitkäkestoisessa hoidossa olevan potilaan seurannassa, jättää varmistusanalyysi tekemättä. Silloin on tunnettava käytetyssä seulontatestissä olevat epävarmuustekijät sekä saadun tuloksen käyttöön liittyvät rajoitteet.

Huumausainetestistä pyydettyä on arvioitava mahdollisimman tarkkaan seuraukset, jotka voivat tulla potilaalle mahdollisesta positiivisesta seulontatuloksesta välittömästi tai myöhemmässä vaiheessa. Esimerkiksi voidaan harkita päihdehuollon asiakkaan hoitovastuun siirtämistä yksiköstä toiseen tai lastensuojelun asiakkaan lasten tapaamisoikeuden rajoittamista. Näitä arvioidessa on olennaista tuntea ensivaiheen analyysimenetelmien toimivuuteen liittyvät tekijät, niiden mahdolliset virhelähteet sekä tilanteet, jotka johtavat huumausainetestin suorittamiseen. Näiden asioiden tunteminen ovat edellytyksenä, jotta voidaan suorittaa mahdollisimman luotettavaa laboratorioanalytiikkaa.

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää Fimlab Laboratoriot Oy:ssä käytettävien ensivaiheen immunologisten huumausaineseulontamenetelmien luotettavuutta. Ensivaiheen seulontatulokset lähetetään varmistukseen, jossa selviää, onko ensivaiheen seulonta antanut väärän positiivisen tuloksen osoittamalla ensivaiheen seulonnassa mitatun huumausaineen läsnäolon varmistusanalyysissä. Oikeita positiivisia tuloksia verrattiin väärin positiivisiin tuloksiin laskemalla kustakin seulonnasta saatujen testien määrät sekä suhdeluvut vastaaviin testeihin. Tuloksia voidaan pitää suuntaa antavina ja niitä voidaan käyttää pohjana huumausaineseulontaan liittyviä jatkotutkimuksia suunniteltaessa. Tulokset kirjattiin opinnäytetyön loppuun. Opinnäytetyössä raportoitii myös tärkeimmät huumausainetestien virhelähteet ja kuvailtiin tarkasti käytössä olevat immunologiset analyysimenetelmät.

Työ suoritettiin noin kolmen kuukauden aikana tutkituista huumausainenäytteistä (727 näytettä ajalta 1.10.2015 – 31.12.2015), jotka oli merkitty Excel-tiedostoon. Tiedostosta on poistettu potilastiedot yksityisyyden ja potilasturvallisuuden takaamiseksi.

Asiasanat: huumausaineseulonta, väärät positiiviset, varmistusanalytiikka

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Scientist

LEINONEN, TEEMU:

Drug Screening Results Sent for Confirmation – Are There False Positives?

Bachelor's thesis 47 pages
August 2017

Drug testing used in social welfare and health care industry is usually performed in two phases; the results of the first phase drug screening tests are sent for a reliable confirmation analysis. Although the first phase testing is faster and more unreliable than the confirmation analysis, the confirmation analysis can in certain situations for justified reasons be excluded when performing healthcare tests. One of these reasons include monitoring a patient in a long-term medical treatment. In these cases it is important to know the uncertainty factors that are present in screening tests, as well the limitations of the use of obtained results.

When a drug screening test is requested, healthcare professionals must evaluate as precisely as possible any consequences that may follow from positive screening results. These consequences can appear immediately or at later time in a patient's life. For example the patient who is a customer of substance abuse counseling services, can have the medical treatment responsibility transferred into another unit, or a customer of child protective services can have their visiting rights limited. Knowledge of functionality, precision and sources that cause false results in first phase analysis is vital as well as evaluating the situations that result in drug analysis test to take place. When these aspects are taken into consideration, reliable analysis with precise results can be performed.

The purpose of this study was to examine and clarify the reliability of the first phase immunological drug screening methods used in Fimlab Laboratoriot Oy. The first phase results are sent to the confirmation analysis, which determines the presence of drug measured in the first phase drug analysis. The absence of a drug in the confirmation analysis leads to a false positive result. Positive results obtained from confirmation analysis were compared to false positive results by calculating the amount and ratio of false positives compared to the total amount of corresponding test results. The results can be considered referential and can be used for planning follow-up research regarding drug screening methods. The results are presented at the end of the thesis. This study also presents the most important sources of errors from drug screening tests and depicts immunological analysis methods in use.

Drug screening results were examined and calculated from a document file (Excel) containing samples from a timespan of three months (727 samples during a period of 1.10.2017 – 31.12.2017). Patient information was removed from the file to ensure patient privacy and security.

Key words: drug screening, false positives, confirmation analysis

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	TUTKIMUKSEN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT	9
3	SUOMEN HUUMETILANTEESTA 2010-LUVULLA	10
4	HUUMESEULONTA	13
4.1	Huumeiden eliminoitumisajat.....	17
4.2	Sensitiivisyys ja spesifisyys.....	18
4.3	Positiivisen ja negatiivisen tuloksen ennustearvo.....	18
4.4	Cut-off.....	20
5	ENSIVAIHEEN ANALYYSIMENETELMÄT	22
5.1	Vasta-aineet	22
5.2	Cloned Enzyme Donor Immunoassay – menetelmä (CEDIA)	23
5.3	Kinetic Interaction of Microparticles in Solution – menetelmä (KIMS) ..	25
5.4	Ristireagoiminen	27
5.5	Reseptilääkkeet väärin positiivisten aiheuttajina	28
5.6	Testien manipulaatio ja väärät negatiiviset.....	29
6	VARMISTUSANALYYSIMENETELMÄT	31
6.1	Kaasukromatografia-massaspektrometrinen menetelmä (GC-MS).....	31
6.2	Väärät positiiviset ja negatiiviset tulokset GC/MS menetelmässä	33
7	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT	35
8	OPINNÄYTETYÖPROSESSI.....	37
9	TULOKSET	40
10	POHDINTA.....	43
	LÄHTEET	45

ERITYISSANASTO

Affiniteetti	(immunologiassa) vasta-aineen ja antigeenin keskeinen sitoutumisvoimakkuus
Agglutinaatio	yhteenkasautuminen/takertuminen
Aggregaatti	yhteenkasautumista aiheuttava molekyyli
Aggregaatio	kasautuminen
Absorbanssi	valon imeytyminen aineeseen tai liuokseen
Antigeeni	immuunivasteen aiheuttava molekyyli
Derivaatti	yhden kemiallisen tuotteen muuntaminen toiseksi kemialliseksi johdannaiseksi
Derivatisointi	kemiallinen tekniikka, jossa kemiallinen tuote muutetaan rakenteeltaan vastaavanlaiseksi tuotteeksi (derivaatiksi)
Elinikäisprevalenssi	ilmaisee, onko vastaaja joskus elämässään käyttänyt tai kokeillut huumausainetta.
Epitoppi	pintarakenne (antigeenin)
GC/MS	lyhenne kaasukromatografi-massaspektrometrilaitteesta
Heterogeeninen assay	immunologinen menetelmä, joka vaatii leimatun ja vapaan antigeenin erottamista ennen leimatun antigeenin mittaamista.
Homogeeninen assay	immunologinen menetelmä, joka sallii leimatun antigeenin mittaamisen ilman sidotun ja vapaan antigeenin erottamista.
Hydrolyysi	kemiallinen reaktio, jossa yhdiste hajoaa vettä lisättäessä takaisin lähtöaineikseen
Konjugaatti	Vasta-aineen ja merkkiaineen yhdistelmä, jonka tarkoituksena on antigeenin tunnistaminen
Metabolia	aineenvaihdunta
Prevalenssi	esiintyvyys (väestössä)
Reagenssi	aine, joka kuluu kemiallisessa reaktiossa muodostaen osan lopputuotteista tai koko lopputuotteen

1 JOHDANTO

On arvioitu, että vuoden 2014 aikana yksi kahdestakymmenestä aikuisesta, tai neljännesmiljardi ihmistä 15 ja 64 ikävuoden väliltä, käytti vähintään yhtä huumausaineeksi luokiteltavaa ainetta. Karkeasti laskettuna tämä määrä vastaa Ranskan, Saksan, Italian ja Englannin kokonaisväkimäärää yhteensä. Vaikka se on huomioitavan suuri määrä, se ei ole varsinaisesti kasvanut viimeiseen neljään vuoteen. Arviolta yli 29 miljoonaa huumeidenkäyttäjää maailmassa kärsii huumeiden aiheuttamista ongelmista, joista 12 miljoonaa käyttää huumeita suonensisäisesti. Näistä edelleen 14 prosenttia kantaa HIV-virusta. Terveydellisiä seurauksia punnittaessa ovat huumeiden vaikutukset nykypäivänäkin erittäin vahingolliset. (UNODC 2016.)

Huumeiden kokeilu ja käyttötaso Suomessa on 2000-luvulta lähtien kasvanut huomattavasti aiempaan 1990-luvun alkuun verrattuna (Varjonen 2016, 30). Käsitteet kuten ”huume” ja ”lääke” ovat synonyymisiä ja vaihtelevia monissa eri maissa, joista englannin kielessä sanaa ”drug” käytetään tarkoittamaan molempia asioita. Suomen kielen sana on synonyyminen laittomiin päihteisiin, joka on myös määritelmänä altis kritiikille. (Kainulainen 2016.) Myös Suomen huumausainelain mukaan huumausaineiden lähtöaineet kuuluvat lääkkeisiin, joista säädetään lisäksi lääkelaissa (395/1987) ja huumausainelaissa (Huumausainelaki 30.5.2008/373, 1. luku 4 §).

Kriminologian dosentti Heini Kainulaisen (2016) mukaan on oikeudellisesti vaikea ratkaista, mitä aineita pitäisi käsitellä huumausaineina. Kysymyksessä on sopimuksenvarainen asia, josta ei vallitse yksimielisyyttä. Kyse on huumausainelaillisen määritelmän mukaan kyse on aineista, jotka on listattu kansainvälisissä sopimuksissa ja menettelyissä tai kansallisella päätöksenteolla erikseen huumausaineiksi. (Kainulainen 2016.)

Huumausainelaissa säädetystä yleiskiellosta voidaan poiketa lukuisista syistä. Huumeiden käyttö lääkinnällistä, tutkimuksellista, valvonnallista ja teollista tarkoitusta varten tarvitsee luvan Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskuselta (Fimea), jonka jälkeen toimijoilla on useita velvollisuuksia huumausaineita käsitellessään. (Kainulainen 2016.) Huumausaineiden käsittelystä, valvonnasta ja säätelystä on olemassa tarkat valtioneuvoston antamat asetukset Suomen lainsäädännössä (Valtioneuvoston asetus

huumausaineiden valvonnasta 548/2008) (Risikko & Tuominen 2008). Määräyksiä rikottaessa huumausaineiden lailliset käyttäjät voidaan tuomita rikkomuksesta sakkoihin, jota tapahtuu kuitenkin harvoin. Yleensä huumausaineista tuomitaan rikoslain perusteella, kun ihmiset hankkivat, liikuttelevat, kaupittelevat tai käyttävät huumeita laittomilla markkinoilla. (Kainulainen 2016.)

Huumausaineiden testaustapoja on olemassa useita erilaisia, joihin kuuluvat esimerkiksi päihdehuollon asiakkaan, työterveyshuollon tai opiskelijoiden testaaminen. Huumetutkimuksen seurauksien perusteella voidaan esimerkiksi päihdehuollon asiakkaan hoitovastuu siirtää yksiköstä toiseen tai rajoittaa lastensuojelun asiakkaan lasten tapaamisoikeutta, jolloin noudatetaan työterveyshoitoa vastaavia testauksen toimintatapoja. Tällöin koko huumetestauksen kululle asetetaan tiettyjä ja erityisiä vaatimuksia. Näyte tulee ottaa valvotusti ja varmistusmääritykset tulee aina tehdä. Huumetestaukseen perehtyneen lääkärin tulee tulkita varmistusmenetelmällä saatu positiivinen testitulos ja kirjata tulkinta potilasasiakirjoihin. (Mykkänen ym. 2015.)

Terveydenhuollon huumetestaus tehdään yleisesti kaksivaiheisena. Nopean ensivaiheen huumeaseulontatestin positiiviset tulokset varmistetaan luotettavalla varmistusanalyysillä. Vaikka ensivaiheen testin tulos ei ole välttämättä oikea positiivinen, voidaan perusteluista syistä varmistusanalyysi jättää tekemättä. (Mykkänen ym. 2015.) Yksi tällaisista syistä on pitkäkestoisessa hoidossa olevan potilaan seuranta (Seppälä ym. 2008, 111). Varmistamatta jättäessä tulee tietää käytetyn seulontatestin epävarmuustekijöistä sekä saadun tuloksen käyttöön liittyvistä rajoitteista (Mykkänen ym. 2015).

Opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää, kuinka paljon vääriä positiivisia tuloksia ilmenee varmistuksesta saaduista tuloksista. Fimlab Laboratoriot Oy Tampereen toimipiste lähettää ensivaiheen seulontatulokset varmistukseen, jossa selviää, onko ensivaiheen seulonta antanut väärän positiivisen tuloksen. Väärä positiivinen selviää varmistusanalyysin kautta, jossa etsitään ensivaiheen seulonnassa havaittua huumausainetta. Varmistusanalyysissä löytyessä ensivaiheen analyysissä havaittua ainetta, on tuloksena oikea positiivinen. Jos ainetta ei löydy varmistuksessa, on tuloksena väärä positiivinen.

Opinnäytetyössä oikeita positiivisia tuloksia verrattiin väärin positiivisiin tuloksiin laskemalla kustakin seulonnasta saatujen testien määrät sekä suhdeluvut. Työtä varten vastaanotin tiedoston, joka sisälsi useita satoja näytteitä noin kolmen kuukauden ajalta (727

näytettä ajalta 1.10.2015 – 31.12.2015). Fimlab Laboratoriot Oy Tampereen toimipisteessä on käytössä automatisoidut seulontamenetelmät, joissa tutkitaan virtsasta kuutta eri huume- ja lääkeainetta. Nämä ovat amfetamiini, bentsodiatsepiinit, buprenorfiini, kannabis, kokaiini ja opiaatit (kodeiini, morfiini ja tramadoli). Tavoitteena on selvittää näitä aineita mittaavien ensivaiheen menetelmien luotettavuutta.

Fimlab Laboratoriot Oy varmistaa seulontojen tulokset Yhtyneet Medix Oy:n (YML) laboratoriossa Helsingissä kaasukromatografisella referenssimenetelmällä, jonka avulla selviää, onko immunologisesta testistä saatu positiivinen tulos oikea vai väärä positiivinen. Tässä tapauksessa väärä positiivinen ilmenee siitä, näkyykö varmistusanalyysissä samoja aineita kuin mitä on havaittu ensivaiheen immunologisessa testissä. Jos varmistuksessa ei havaita aineita, jotka ensivaiheen testeissä on todettu, on tuloksena väärä positiivinen. Oikea positiivinen tulos ilmenee silloin, kun varmistusanalyysissä on löydetty samaa ainetta, jota ensivaiheen analyysimenetelmä on mitannut.

Opinnäytetyössä esitän myös Fimlab Laboratoriot Oy:n käytössä olevat menetelmät ja näytteenottotavat, joilla huumausaineseulontaa toteutetaan. Käsittelen opinnäytetyössä myös aineita ja tapoja, joiden vuoksi ensivaiheen analyysistä tulee vääriä positiivisia tuloksia. Lisäksi käyn lyhyesti läpi huumausainetilannetta nykyajan (2010-luvun) Suomessa.

2 TUTKIMUKSEN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT

Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää Fimlab Laboratoriot Oy Tampereen toimipisteessä käytettävien immunologisten huumausaineseulontamenetelmien luotettavuutta. Tarkoituksena on poimia varmistuksesta saadut negatiiviset tulokset, joiden kautta ilmenee, kuinka paljon vääriä positiivisia tuloksia ensivaiheen immunologiset seulontamenetelmät ovat aiheuttaneet. Opinnäytetyössä kerrotaan myös menetelmien toimintaperiaatteet, yleisimmät virhelähteet sekä lopulta väärien positiiviset tulosten määrä ja suhdeluku verrattuna oikeisiin positiivisiin tuloksiin. Oikea positiivinen tulos ilmenee silloin, kun varmistusanalyysissa on löydetty samaa ainetta, jota ensivaiheen analyysimenetelmä on havainnut. Fimlab Laboratoriot Oy:ltä vastaanotetussa tiedostossa näkyvät testien tulokset mutta ei potilastietoja, jolloin nämä tiedot pysyvät salassa.

Opinnäytetyön tehtäviin kuuluu selvittää, kuinka usein testeistä on saatu väärä positiivinen tulos. Opinnäytetyössä lisäksi tarkastellaan, tuleeko toisista aineista enemmän vääriä positiivisia kuin toisista ja pyritään selvittämään syitä, jotka johtavat väärien positiivisten syntyyn. Lisäksi opinnäytetyössä käydään läpi ensivaiheen analyysissa käytettyjen menetelmien luotettavuutta niiden toimintatapoja ja -malleja arvioimalla. Näiden avulla voidaan edelleen arvioida menetelmien luotettavuutta. Saaduista tuloksista riippuen tullaan mahdollisesti asettamaan ko. testien raja-arvot uusiksi riippuen siitä, kuinka paljon vääriä positiivisia on suhteessa oikeisiin positiivisiin tuloksiin.

3 SUOMEN HUUMETILANTEESTA 2010-LUVULLA

Kansallinen huumevuosiraportin (Varjonen 2014) mukaan huumausaineiden käyttö ja huumeisiin liittyvät ongelmat ovat pysyneet viime vuosien aikana melko vakaalla tasolla. Vuonna 2010 tehdyn väestökyselyn mukaan 17 prosenttia 15–69-vuotiaasta suomalaisesta on käyttänyt vähintään kerran elämänsä aikana jotain laitonta huumetta. (Varjonen 2014, 6.) Vuonna 2014 tämä määrä oli noussut 20 prosenttiin (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 27). Kannabis on selvästi eniten käytetty huume, jonka käyttö on myöskin lisääntynyt vuodesta 2010. Kannabista joskus kokeilleiden osuus 15–69-vuotiaassa väestössä oli vuoden 2008 väestökyselyn mukaan 13 %. Sitä edeltävän vuoden aikana kannabista oli käyttänyt 3 % väestöstä. Vuonna 2014 syksyllä joka viides (19,4 %) suomalainen ilmoitti ainakin kerran elämässään kokeilleensa kannabista. Osuus oli kaksinkertainen (38,4%) nuorten aikuisten (25–34-vuotiaat) ikäryhmässä (Päihdetilastollinen vuosikerta, 2016, 28; Forsell ym. 2010, 5.)

Merkittävin muutos kohdistuu käsityksiin kannabiksen kokeilun ja säännöllisen käytön riskeistä. Vuoden 2014 kyselyn mukaan puolet vastaajista olivat sitä mieltä, että kannabiksen vähäinen käyttö sisältää korkeintaan vähäisen riskin. Miehistä näin ajatteli 60 prosenttia ja naisista 39 prosenttia. 15–24-vuotiaista riskejä piti vähäisinä 63 prosenttia ja 25–34-vuotiaista 71 prosenttia. (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 29.)

Muita huumausaineita kannabiksen ohella käytetään huomattavasti vähemmän. Päihdetilastollisen vuosikerran (2016, 27) mukaan amfetamiinin, ekstaasin ja huumaavien sienten elinikäisprevalenssit ovat noin 2–3 prosenttia ja nuorilla aikuisilla noin 6–7 prosenttia. Niistä ainoastaan ekstaasin käyttö on lisääntynyt vuodesta 2010. Myös kokaiinin käyttö on hieman lisääntynyt, mutta on edelleen suhteellisen harvinaista. LSD:n käytön esiintyvyys on noin prosentin luokkaa. (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 27.)

Suomessa buprenorfiinin käyttö on ollut pitkään heroiinin käyttöä yleisempää. Sitäkin yleisempää vaikuttaisi olevan uusien voimakkaiden kipulääkkeiden, kuten tramadolin, fentanylin ja oksikodonin käyttöä. Kyselytutkimuksen mukaan buprenorfiinia ilmoitti käyttäneensä 0,8 prosenttia vastaajista ja muita opioideja 1,6 prosenttia. (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 28.)

Suomessa asuvien 14–20 -vuotiaiden nuorten huumeiden kokeilua ja käyttöä kartoitetaan joka toinen vuosi toteutettavalla valtakunnallisella Kouluterveyskyselyllä. Päihdetilastollisen vuosikerran (2016) mukaan vuonna 2015 tehdyn kyselyssä selvisi, että perusopetuksen kahdeksannen ja yhdeksännen luokan oppilaista 8 prosenttia, lukion ensimmäisen ja toisen vuosiluokan oppilaista 12 prosenttia ja ammatillisten oppilaitosten ensimmäisen ja toisen vuosiluokan oppilaista 22 prosenttia oli ainakin kerran elämänsä aikana kokeillut kannabista, ekstaasia, amfetamiinia, Subutexia, heroiniä, kokaiinia, LSD:tä, gammaa tai muita vastaavia huumeita. (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 28.)

Huumausaineisiin liittyvät kuolemat ovat viime vuosina lisääntyneet selvästi, vaikka samanaikaisesti tilanne on muiden huumeiden aiheuttamien haittojen osalta pysynyt vakana. Vuodesta 2006 vuoteen 2008 huumausainelöydösten määrä on kasvanut 35 % (183 -> 247 tapausta) ja kuolinsyytilaston mukaan 22 % (138 -> 169 tapausta). Terveysneuvonnalla ja puhtaiden välineiden vaihdolla on kuitenkin onnistuttu selvästi ehkäisemään HIV- ja hepatiittitartuntojen leviämistä. Vuonna 2009 Poliisin tietoon tulleiden huumausainerikosten määrä kasvoi 13 % edeltävään vuoteen verrattuna. (Forsell ym. 2010, 5–6.)

Suomalaisten asenteet huumeita kohtaan ovat myös vuosien saatossa muuttuneet. Aikuisväestön huumausaineiden käytön yleisyyttä on mitattu kyselytutkimuksissa vuodesta 1996 lähtien. Tutkimuksissa vastaajilta on kysytty huumeiden käytöstä aiheutuvaa terveydellistä tai muuta riskiä. Tuloksissa näkyy kahta erilaista kehitystä: suomalaisten suhtautuminen humalahakuiseen juomiseen ja tupakointiin kehittyivät kriittisempään suuntaan, kun taas käsitykset kannabiksen käytöstä näyttivät lieventyvän. (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 28.)

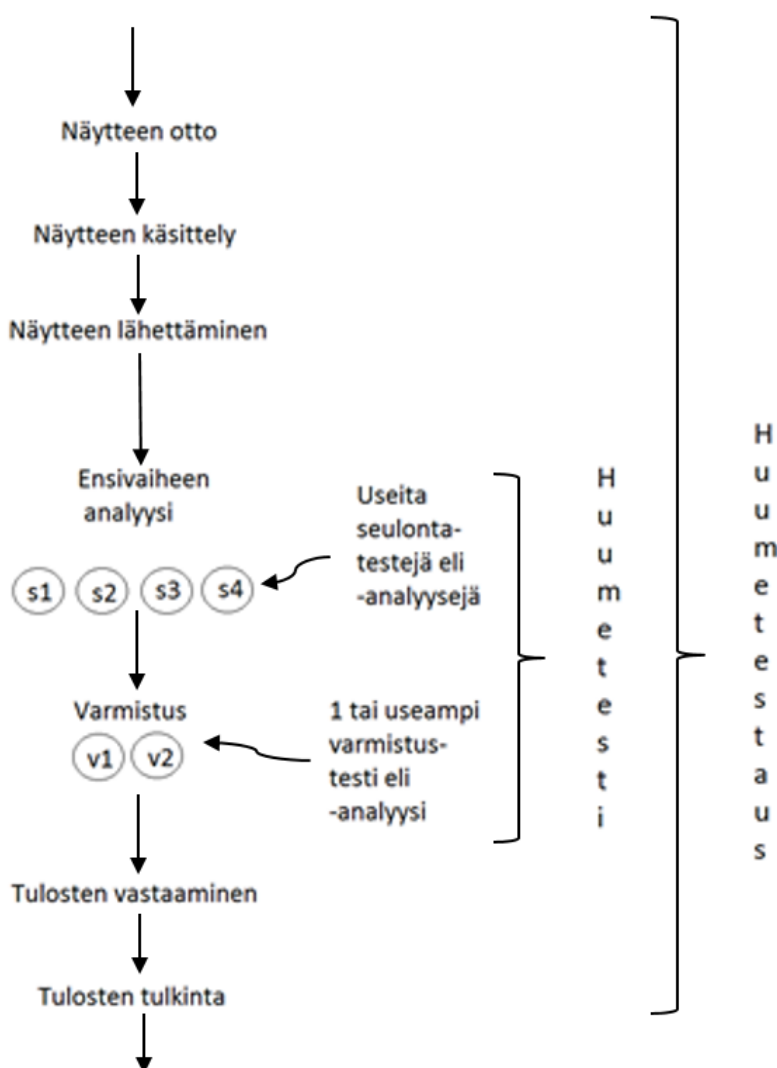
Kaikkia ikäryhmiä koskeva suhtautuminen heijastaa vastaavanlaista kehitystä. Yli 45-vuotiaista 36 prosenttia arvioi kannabiskokeilun riskit korkeintaan vähäisiksi, kun kaksikymmentä vuotta aiemmin tätä mieltä oli 16 prosenttia ko. ikäryhmästä. Suhtautuminen kovempien huumeiden, kuten heroinin kokeiluun on kuitenkin pysynyt hyvin kriittisenä. On oletettavissa, että aikaisempaa useampi suomalainen tekee eron kannabiksen ja muiden huumeiden välillä. (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 29.)

Myös eurooppalaisen 15–16-vuotiaille suunnatun koululaistutkimuksen (ESPAD) mukaan alaikäisten nuorten asenteet kannabiksen käyttöä kohtaan ovat lieventyneet 1990-

luvun puolivälistä lähtien (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 29). Vuoden 2007 tutkimuksen mukaan 15–16-vuotiaista koululaisista 8 % oli kokeillut kannabista joskus elämänsä aikana (Forsell 2010, 5). Vuonna 2015 lähes puolet nuorista piti kannabiskokeiluja riskejä olemattomina tai vähäisinä, kun taas viidennes nuorista piti riskejä suurina. Lisäksi niiden osuus, jotka pitivät säännölliseen kannabiksen käyttöön liittyviä riskejä suurina, on tasaisesti vähentynyt (73 % vuonna 2015). Nuoret pitivät myös ekstaasin ja amfetamiinin kokeiluun liittyviä riskejä aiempaa pienempinä. (Päihdetilastollinen vuosikerta 2016, 29.)

4 HUUMESEULONTA

Huume-testauksen tulee tapahtua ennalta sovittujen toimintatapojen mukaisesti. Kaaviossa 1 on esitetty olennaisimmat huume-testauksen vaiheet, jossa voidaan todeta huume-testin olevan vain yksi osa koko huume-testausta (kaavio 1). Yksittäinen huume-testi koostuu ensivaiheen analyysistä eli seulonnasta sekä varmistusanalyysistä silloin, kun tulos on positiivinen. Ensivaiheen analyysissä suoritetaan yleensä useita erilaisia immunologisia huumeiden seulontatestejä eli –analyyskejä. Nämä voidaan tehdä joko erilaisten laboratoriolaitteiden avulla tai pikatesteillä, joissa tulos on usein luettavissa muutaman minuutin kuluttua testin suorittamisen jälkeen. (Seppälä ym. 2008, 89; Lehtonen 2006, 10.)



KAAVIO 1. Huumausaineseulonnan kokonaisprosessi näytteenotosta näytteen tulkintaan (Seppälä ym. 2008, 89, muokattu).

Jos halutaan huumausaineiden käytön lisäksi tutkia myös lääkeaineiden väärinkäyttöä, käytetään tutkimuksena laajaa huumausaineseulontaa (U-HuumL-O). Seulonta kattaa tavanomaisesti käytettävät huumeet ja lääkeaineet, yhteensä n. 300 eri ainetta, jossa menetelmä mittaa spesifisesti ko. aineita tai niiden aineenvaihduntatuotteita. Laajassa seulonnassa käytetään immunologisten menetelmien lisäksi myös kemiallisia menetelmiä testin kattavuuden täydentämiseksi (esim. kromatografiset ja massaspektrometriset menetelmät). (Seppälä ym. 2008, 89; Huume- ja lääkeaineseulonta 2017.)

Tavallisimmassa huumeseulonnassa tutkitaan virtsanäytteestä tunnetuimmat ja käytetyimmät huumeet. Tutkimuksella voidaan osoittaa nopeasti virtsasta amfetamiini, bentosodiatsepiinit, buprenorfiini, kannabis, kokaiini ja opiaatit. Halutessa kutakin huumausainetta voidaan tutkia myös erikseen. Tätä tutkimusta kutsutaan nimellä U-Huum-O (Huumeseulonta 2015).

Huumeseulonta toteutetaan tyypillisesti siihen koulutetun työntekijän valvonnassa. Valvonnallisessa testauksessa näytteenottotapahtuma on kokonaisuudessaan suoritettava teknisesti luotettavasti siten, ettei näytettä voida manipuloida eikä näytteenottotapahtumaa kyseenalaistaa jälkeenpäin. Ennen näytteenoton aloittamista laboratorion näytteenottajan on varmistettava testattavan henkilön henkilötiedot. Paras tapa suorittaa valvonnallinen testaus on, että näytteenantajan kanssa samaa sukupuolta oleva henkilö seuraa koko ajan näytteenottotapahtumaa varsinaisessa WC-tilassa. Tämä ei ole kuitenkaan aina mahdollista eikä asiallista intymiteetti- ym. syistä. (Seppälä ym. 2008, 103.)

Näytteenottajan tulisi pääsääntöisesti olla terveydenhuoltoalan koulutuksen saanut henkilö. Työpaikkatestauksessa näytteitä voivat työelämän tietosuojalain 14 §:n perustuvan valtioneuvoston asetuksen mukaan ottaa terveydenhuollon ammattihenkilöt, joilla on dokumentoitu lisäkoulutus huumeiden näytteenottoon. (Lehtonen 2006, 23.)

Tyypillisin näytemuoto huumausaineseulonnassa on virtsanäyte. Virtsanäytteen ottoon käytetään joko tavallisia sairaalassa käytettäviä näytteenottotarvikkeita tai huumetestausta varten suunniteltuja välineitä. Näytteenottovälineitä pitää olla useita, jolloin testattava voi halutessaan itse valita käytettävät näytteenottovälineet. Kaikki käytettävät välineet ovat kertakäyttöisiä. Virtsankeruuastiana käytetään muovista 100–200 ml purkkia, joka voi sisältää lämpötilaindikaattorin. Näytepullot tai -putket (5–50 ml) voivat olla la-

sia tai muoviva, mutta niiden on kestettävä pakastamista ja ne pitää voida sinetöidä. Näytepulloja tai –putkia on varattava sekä A- että B-näytettä varten, joihin näyte jaetaan keräysastiasta näytteenoton jälkeen. Näytetunnisteena voidaan käyttää potilaan henkilötietoja tai numerokoodia käytännöstä riippuen. (Seppälä ym. 2008, 102–103.)

Analysointi tehdään A-näytteestä. B-näyte säilytetään sinetöitynä ja analysoidaan, mikäli testattava riitauttaa varmistetun positiivisen testituloksen 30 vrk:n sisällä testituloksen vastaanottamisesta. (Mykkänen 2006, 3.) Näytteenottoa varten tarvitaan tarpeen mukaan nimi- ja sinetöintitarroja, lämpömittari, pH-paperia sekä testiliuskoja näytteen kelpoisuuden toteamiseen. Näytteenottovälineiden valinta riippuu huumetestinäytteen tarkoituksesta ja näytteen koskemattomuuden ja turvallisuuden takaamisesta koko testausketjun aikana. (Seppälä ym. 2008, 102.)

Analyttisessä mielessä virtsa on paras valinta immunologisessa seulontamenetelmässä käytettäväksi, koska siinä on yleensä vähemmän mittausta häiritseviä proteiineja ja hajoamistuotteita. Muita kehon nesteitä ja kudoksia (esimerkiksi veri-, sylki- ja hiushäyte) voidaan käyttää eri tulkintoja varten. Esimerkiksi kuolinsyytä selvitellessä virtsanäyte ei olisi hyödyllinen, jos testataan henkilöä, joka on kuollut heroiinin yliannostukseen. Tällöin henkilöllä on korkeat morfiinikonsentraatiot veressä muttei virtsassa, jolloin opiaatteja mittaava immunologinen seulonta antaisi negatiivisen tuloksen heroiiniyliannostukseen kuolleen virtsasta. (Smith 2016, 164.) Verestä saadun kvantitatiivisen tuloksen perusteella voidaan antaa arvio vaikutuksenalaisuudesta (Seppälä ym. 2008, 101).

Verinäytteenottoon käytetään tyhjiöputkia, jotka sisältävät hyytymisenestoainetta (esim. kaliummoksalaatti) ja säilöntäainetta (esim. natriumfluoridi). Näyte otetaan mieluiten kahden 10 ml:n näyteputkeen ja näytettä tulisi olla vähintään 4 ml. Oikeuslääketieteellisissä määrityksissä käytetään yleensä näyttemateriaalina kokoverta, mutta vastaavanlaiset analyysit voidaan myös tehdä seerumista tai plasmasta. Näytteitä analysoivan laboratorion tulee tarkistaa määrityksiin soveltuvat näytteenotto- ja erotteluputket. Näytteiden sinetöinnissä ja identifikaatiotunnusten merkitsemisessä toimitaan kuten virtsanäytteessä. (Seppälä ym. 2008, 105.)

Huumaus- ja lääkeaineiden löytymiseen virtsanäytteestä lukuisat eri asiat, kuten otettu annos, annostiheys ja antotapa, tutkittavan aineen farmakokineettiset ominaisuudet, yksi-

lölliset erot lääkeainemetaboliassa, milloin ainetta on otettu viimeksi, virtsanäytteen ominaispaino ja pH sekä käytetyn analyysimenetelmän herkkyys. Huumaus- ja lääkeaineiden toteamisajat virtsanäytteestä voivat vaihdella hyvin paljon tapauksesta riippuen. (Huume- ja lääkeaineseulonta 2017.)

Virtsanäytteen puuttuessa tai kun halutaan arvioida huumausaineen määrää elimistössä, voidaan vaihtoehtoisesti tutkia huumausainepitoisuuksia veri- ja sylkinäytteistä. Jos halutaan saada tietoa aikaisemmasta huumausaineen käyttämisestä, voidaan käyttää hiusnäytettä. Sylkinäyte sopii parhaiten ensivaiheen analyysieihin, joissa käytetään immunologista menetelmää muutaman yleisimmän huumausaineen ja -ryhmän alustavaan osoittamiseen. Tosin bentsodiatsepiinien ja kannabinoidien toteamisen osalta sylkinäytteiden tutkimusmenetelmissä on silti kehittämisen tarvetta. (Seppälä ym. 2008, 101.)

Huumaus- tai lääkeaineita tutkittaessa syljestä on näytteenotto analyysin luotettavuuden kannalta kriittinen vaihe. Näyte kerätään valmistajan ohjeiden mukaisesti erilaisilla keräimillä, sylkemällä, valuttamalla tai imemällä. Keräimet ovat hyvä apu sylkinäytettä otettaessa, mutta ne voivat alentaa mitattavien yhdisteiden pitoisuutta ja häiritä analysointia. Syljen virtausta voidaan stimuloida kemiallisesti, kuten sitruunahapolla, tai mekaanisesti. Stimulaatio vaikuttaa usein alentavasti aineiden pitoisuuden syljessä tai aiheuttaa häiriöitä joissakin immunologisissa määrittelyksissä. (Seppälä ym. 2008, 106.)

Hiusnäytteestä voidaan tutkia huumausaineita, niiden aineenvaihduntatuotteita ja useita lääkinnällisiä aineita. Tietoa voi saada taannehtivasti usean kuukauden tai puolenkin vuoden ajalta. Tutkimuksen perusteella ei voi sen sijaan arvioida huumeen vaikutuksenalaisuutta näytteenottohetkellä. (Seppälä ym. 2008, 101.) Hiusnäyte otetaan korvan takaa, posterior vertex -alueelta (päälaen takaosasta), missä hiusten kasvunopeus on 1–1,5 cm kuukaudessa. Hiuksista muodostetaan noin lyijykynän paksuinen nippu, joka sidotaan tiukasti pumpulilangalla ja katkaistaan päänahkaa myöten saksilla. Sitomalla hiuksia esitetään liikkumasta toistensa suhteen pituussuunnassa. (Seppälä ym. 2008, 106.)

Ensivaiheen analyysi voidaan tehdä näytteenottopaikalla tai näyte voidaan lähettää sitä varten asianmukaisesti varustettuun laboratorioon (Seppälä ym. 2008, 89). Huumetestejä tehtäessä tulee huomioda, että testin suorittava, huumeita käyttävä henkilö saattaa kaikin keinoin pyrkiä estämään huumeidenkäyttönsä esiintulon. Käyttäjät tuntevat keinot mani-

puloida näytettä ja osaavat käyttää hyväksi testien puutteita. Virtsanäytettä, josta ensivaiheen analyysi tehdään, voidaan yrittää manipuloida siten, että tulos on negatiivinen, vaikka henkilö olisikin käyttänyt huumausainetta. Tällaista tulosta kutsutaan vääräksi negatiiviseksi. Tilojen, joissa näytteenotto suoritetaan, tulisi olla sellaiset, että näytteen manipulointia voitaisiin ennaltaehkäistä mahdollisimman hyvin. (Seppälä ym. 2008, 102–103.) Eri aineista voi seurata myös vääriä negatiivisia tuloksia eri analyysimenetelmistä. Näistä aineista lisätietoa sivun 30 taulukosta 3.

4.1 Huumeiden eliminoitumisajat

Huumeiden eliminoitumisajat vaihtelevat huomattavasti. Ensivaiheen seulonnassa käytettyjen huumeiden toteamisajat virtsasta vaihtelevat yhdestä päivästä kuukauteen. Toteamisajan pituuteen vaikuttavat aineenvaihdunnan yksilölliset erot, käytetty ainemäärä, käytön pituus ja käytetyn toteamismenetelmän (immunologinen ja kemiallinen) herkkyys. Lisäksi joidenkin tiettyyn huumausaineryhmään kuuluvien huumeiden, kuten bentsodiatsepiinien ollessa lukuisia, ovat niiden eliminaation puoliintumisajat erittäin vaihtelevia (väliltä 1–60h). (Seppälä ym. 2008, 115.)

Allaolevaan taulukkoon (taulukko 1) on eriteltynä kuuden eri huumausaineen eliminoitumisajat, toteamisajat virtsasta sekä ainetta mittaava seulontamenetelmä.

TAULUKKO 1. Huumausaineiden eliminoitumisajat (Seppälä ym. 2008, 115, muokattu).

Aine	Eliminaation puoliintumisaika (h)	Toteamisaika virtsasta (vrk)	Seulontamenetelmä
Amfetamiini	4–34 (–140) *	2–6	Immunologinen
Bentsodiatsepiinit	1–14	1–14	Imm./Kemiallinen
Buprenorfiini	20–40	7–14	Immunologinen
Kannabis	15–40	<1–30 **	Immunologinen
Kokaiini	1–2	1–4	Immunologinen
Opiaatit	<1–50	1–14	Imm./Kemiallinen

* riippuu virtsan pH:sta

** riippuu käyttötiheydestä

4.2 Sensitiivisyys ja spesifisyys

Testin **sensitiivisyys** ilmaisee, kuinka monella prosentilla niistä henkilöistä, jota testi on tarkoitettu mittaamaan, testi antaa oikean positiivisen tuloksen. Yleisesti huumetestien sensitiivisyydet ovat 70–90 % luokkaa. Kun pyritään mittaamaan tiettyyn huumeryhmään kuuluvia aineita (esimerkiksi opiaatteja), testien sensitiivisyydet ovat silloin huomattavasti alhaisempia. Testit paljastavat vain osan ryhmän aineista (esimerkiksi morfiinin, heroiinin ja kodeiinin) eivätkä anna oikeita positiivisia tuloksia paljastumattomia aineita (esim. buprenorfiinia, metadonia, tramadolia, oksikodonia ja fentanyyliä) käyttävillä henkilöillä. (Seppälä ym. 2008, 108.)

Testin **spesifisyys** kertoo, kuinka monella prosentilla henkilöistä, jotka eivät käytä testissä mitattavaa huumetta, testi antaa (oikean) negatiivisen tuloksen. Yleensä huumetestien spesifisyydet ovat 95–98 % tasolla, ts. käytännössä tarkoittaen, että testi antaa 2–5 %:lle testatuista henkilöistä väärän positiivisen tuloksen ensivaiheen analyysissä. (Seppälä ym. 2008, 108.)

4.3 Positiivisen ja negatiivisen tuloksen ennustearvo

Positiivisen testituloksen ennustearvoa pidetään laboratoriotestin tärkeimpänä ominaisuutena. Se ilmaisee, millä todennäköisyydellä positiivisen testituloksen antaja on huumeen käyttäjä. Todennäköisyys on olennaisesti riippuvainen siitä, kuinka suuri osa tutkittavasta väestöstä käyttää tutkittavaa huumausainetta. Mitä vähemmän käyttäjiä testattavien joukossa, sitä suurempi määrä huumetta käyttämättömien henkilöiden näytteistä antaa väärän positiivisen tuloksen. Esimerkiksi opiaattien käyttäjiä seulottaessa suomalaisväestöstä (ongelmakäyttäjiä n. 0,1 %), oletetuilla opiaattipikatesteillä (sensitiivisyys 80%, spesifisyys 98 %) saadaan 1000 seulottua näytettä kohden keskimääräisesti noin 1 oikea positiivinen tulos opiaatin käyttäjältä ja 20 väärää positiivista tulosta henkilöiltä, jotka eivät käytä opiaatteja. Näin ollen positiivinen testitulos ennustaa ainoastaan noin 5 prosentin (1/21) todennäköisyydellä opiaatin käyttöä. (Seppälä ym. 2008, 108.)

Huumausainetta käyttävien osuuden noustessa seulotusta väestöstä, nousee myös positiivisen testituloksen ennustearvo (taulukko 2). Positiivisen testituloksen ennustearvo jää käytännössä aina niin matalaksi, että pelkän ensivaiheen analyysissä saadun positiivisen

tuloksen perusteella ei seulonnassa tutkittavaa henkilöä saa leimata huumeenkäyttäjäksi, vaan tulos tulee varmistaa varmistusanalyysillä. (Seppälä ym. 2008, 108.)

Negatiivisen testituloksen ennustearvoa voidaan pitää melko korkeana, jos huumeenkäyttäjiä on vähäinen määrä tutkittavien joukossa. Huumeryhmiä mittaavien testien osalta on kuitenkin muistettava, että seulonta saattaa olla kattavuudeltaan ryhmän sisällä yllättävän kapea-alainen. (Seppälä ym. 2008, 109.)

Alla olevassa taulukossa (taulukko 2) näkyy esimerkki hypoteettisesta huumetestistä, jossa ilmenee positiivisen tuloksen ennustearvon ja testituloksen oikeellisuuden vaihtelu huumeenkäyttäjien prevalenssin mukaisesti. Testin sensitiivisyys on asetettu 80 %:n ja spesifisyys 98 %:n oletusarvoon.

TAULUKKO 2. Hypoteettisen huumetestin ennustearvot (Seppälä ym. 2008, 109, muokattu).

	Huumeenkäyttäjien määrä tutkittavista			
	0,1 %	0,5 %	1 %	10 %
Huumeenkäyttäjien kokonaismäärä	1	5	10	100
Huumeita käyttämättömien kokonaismäärä	999	995	990	900
SEULONTATULOKSET 1000 TUTKITULLA				
Testitulos positiivinen käyttäjällä	1	4	8	80
Testitulos positiivinen ei-käyttäjällä	20	20	20	18
Testitulos negatiivinen käyttäjällä	0	1	2	20
Testitulos negatiivinen ei-käyttäjällä	979	975	970	882
Seulontatuloksen oikeellisuus	98,0 %	97,9 %	97,8 %	96,2 %
Positiivisen seulontatuloksen ennustearvo	3,9 %	16,8 %	28,8 %	81,6 %

TULOKSET VARMISTUKSEN JÄLKEEN 1000 TUTKITAVALLA

Testitulos positiivinen käyttäjällä	1	4	8	80
-------------------------------------	---	---	---	----

Testitulos positiivinen ei-käyttäjällä	0	0	0	0
Testitulos negatiivinen käyttäjällä*	0	1	2	20
Testitulos negatiivinen ei-käyttäjällä*	999	995	990	900

* Negatiivista seulontatulosta ei varmisteta automaattisesti.

4.4 Cut-off

Cut-off -raja tarkoittaa tiettyä määrää huumetta, jonka alittuessa kaikkien näytteiden tulokset ilmenevät negatiivisina. Toisin sanoen pitoisuuden ylittäessä cut-off -rajan, näyte antaa positiivisen tuloksen. Cut-off -termiä käytetään seulontamenetelmissä, koska nämä menetelmät identifioivat näytteet joko positiivisiksi tai negatiivisiksi ilman määrällisten tulosten raportointia. (Smith 2016, 164.) Huumeseulonnasta saatu negatiivinen tulos ei välttämättä tarkoita, että näytteessä ei olisi mitattavaa huumetta. On olennaista tietää, mitä cut-off -rajoja kukin laboratorio käyttää kutakin huumausainetta tai -luokkia varten. (Petrie ym. 2012, 1634.)

Eri cut-off -rajojen määrittäminen on yksi merkittävimpiä asioita positiivisen näytteen seulonnassa. Testit, joiden cut-off-raja on matala, ovat pitempään positiivisia kuin korkeampiin cut-off-arvoihin rajatut näytteet. Virtsan konsentroitusasteesta riippuen esimerkiksi kannabista mittaavat testit saattavat antaa positiivisia tuloksia satunnaisesti vielä seuraavina päivinä ilman, että ainetta olisi käytetty uudestaan. (Seppälä ym. 2008, 117.)

Yleisesti toimivan cut-off -arvon luotettavuudessa ja määrittelyssä on useita ongelmia. Työpaikkojen huumetestausohjelmissa spesifiset cut-off -arvot määräytyvät siten, että jokaista henkilöä kohdellaan tasa-arvoisesti huolimatta siitä, mikä laboratorio testaa näytteen (Smith 2016, 166.) Näin ollen laboratorioiden täytyy saavuttaa samanlaiset cut-off-arvot helposti ja niiden täytyy olla samat huolimatta siitä, missä laboratoriossa näytettä testataan, jotta ensivaiheen analyysien tulokset saadaan harmonisoitua (Smith 2016, 166; Lehtonen 2006, 31). Lisäksi cut-off -arvojen tulisi olla samanlaiset huolimatta siitä, mitä immunologista menetelmää käytetään. On kuitenkin huomattu, että erilaisissa immunologisissa menetelmissä on erilaiset ristireaktiivisuudet tavallisille tutkittavan huumeen ai-

neenvaihduntatuotteille. Toisin sanoen joidenkin virtsatestien tulokset voivat näkyä toisessa menetelmässä positiivisena ja toisessa negatiivisena, vaikka molemmissa olisi samat cut-off -rajat. Erityisenä ongelmana onkin se, että immunologisten testien erilainen luonne vastustaa yhdenvertaisen käsittelyn lainmukaisia tavoitteita. (Smith 2016, 166–167.)

5 ENSIVAIHEEN ANALYYSIMENETELMÄT

Ensivaiheen analyyseissä samasta virtsanäytteestä tehdään yleensä useita erilaisia immunologisia testejä. Seulontatestit voidaan tehdä joko automaattisilla analysaattoreilla tai vieritesteillä eli pikatesteillä. Molemmat testaustavat perustuvat samoihin mittausperiaatteisiin. Mittauksessa käytetään hyväksi tutkittavalle aineelle tai aineryhmälle valmistettua spesifistä vasta-ainetta sekä radioaktiivisesti tai muulla tavoin leimattua tutkittavaa ainetta. Testien samankaltaisuuden vuoksi niihin sisältyvät myös pitkälti samat epävarmuustekijät ja rajoitteet. Tästä syystä samalla immunologisella periaatteella toimivaa testiä ei voida käyttää pikatestituloksen varmistamiseen. (Mykkänen ym. 2015, 17.)

Fimlab Laboratoriot Oy:n ensivaiheen huumausaineanalytiikkaan kuuluu kaksi eri tyypistä seulontamenetelmää; KIMS-menetelmä (Kinetic Interaction of Microparticles in Solution) ja CEDIA-menetelmä (Cloned Enzyme Donor Immunoassay). Viidessä kuu-desta huumausainemäärityksessä käytetään KIMS- menetelmää ja yhdessä CEDIA-menetelmää. KIMS-menetelmää käytetään bentsodiatsepiinien, kokaiinin, kannabiksen, opi-aattien sekä amfetamiinin seulonnassa. CEDIA-menetelmää käytetään buprenorfiinin mittaamiseen. Fimlab Laboratoriot Oy:ssä on käytössä Cobas 6000-laitteisto, jonka c 501 -moduuli suorittaa huumausainemittauksessa käytettävät näytteet.

5.1 Vasta-aineet

Huumeiden mittauksessa käytetään joko mono- tai polyklonaalisia vasta-aineita. Kaikissa analyyssimenetelmissä bentsodiatsepiineja lukuun ottamatta käytetään monoklonaalisia vasta-aineita. (Roche työohje 2017.) Bentsodiatsepiinien mittauksessa käytetään lampaan polyklonaalista vasta-ainetta (Benzodiazepines II 2009, 2). Polyklonaalisissa vasta-aineissa on niin hyvät kuin huonot puolensa. Hyvänä puolena voidaan pitää että polyklonaaliset vasta-aineet tunnistavat useita epitooppeja yhdestä antigeenistä, jolloin ne tarttuvat paremmin tiettyyn antigeeniin. Parempi tarttumiskyky on toisaalta hyödytön kvantitatiivisissa menetelmissä (esim. virtaussytometriassa) koska se synnyttää epätarkkoja tuloksia. (Hirzel 2017.)

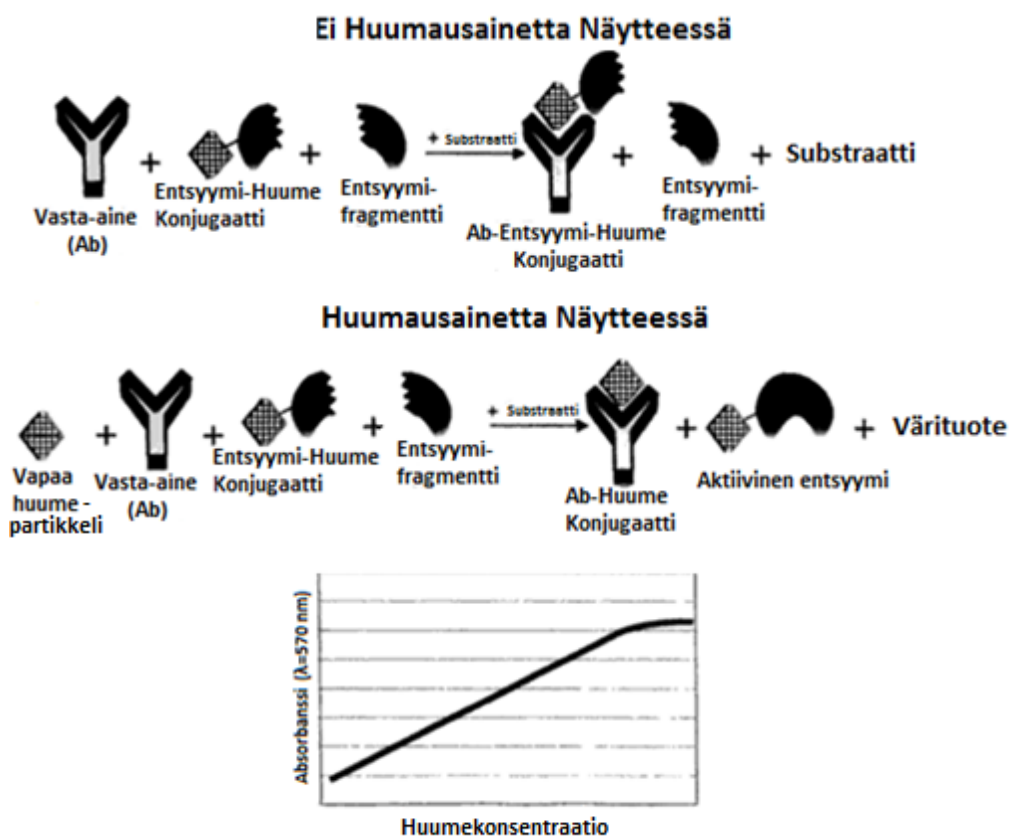
Polyklonaalinen antiseerumi sisältää vasta-aineita kaikkia antigeenejä vastaan, joille eläin on koskaan altistunut. Tästä syystä antiseerumi sisältää enintään 20–30 % immunoglobuliineja, joista noin 10 % ovat spesifisiä vasta-aineita haluttuja antigeenejä kohtaan. (Schalkhammer 2002, 103.) Polyklonaalinen antiseerumi sisältää vasta-aineita kaikki antigeenejä vastaan, joille eläin on koskaan altistunut. Tästä syystä antiseerumi sisältää enintään 20–30 % immunoglobuliineja, joista noin 10 % ovat spesifisiä vasta-aineita haluttuja antigeenejä kohtaan. Polyklonaaliset vasta-aineet voivat tarttua useisiin epitooppiin eli pintarakenteisiin, jolloin ne aiheuttavat enemmän ristireaktioita. Polyklonaalisia vasta-aineita käytettäessä immunogeeninen sekvenssi on otettava huomioon ristireaktiivisuuden vuoksi. (Hirzel 2017.) Polyklonaalisia vasta-aineita sisältävässä antiseerumissa on useita eri vasta-ainetyyppejä, joista kullakin on erilainen affiniteetti tutkittavaa antigeenia tai yhdistettä kohtaan (Smith 2016, 153).

Monoklonaalisten vasta-aineiden suurimpana etuna voi pitää niiden korkeaa spesifisyyttä, ts. ne tarttuvat vain yhteen antigeenin epitooppiin. Toisaalta monoklonaalisten vasta-aineiden tuotto kestää pitempään ja on kalliimpaa, koska niiden tuottaminen vaatii kehittyneitä teknologioita ja ammattitaitoa laitteiden käyttöä varten. (Hirzel 2017.)

5.2 Cloned Enzyme Donor Immunoassay – menetelmä (CEDIA)

CEDIA (Cloned enzyme donor immunoassay) on homogeeninen ja kompetitiivinen immunologinen menetelmä, jota käytetään Fimlab Laboratoriot Oy:n seulontamenetelmissä buprenorfiinin mittaamisessa näytteestä. Buprenorfiini ei näy perinteisissä opiaattien seulonta-analyyseissä, joten se täytyy seuloa erikseen. CEDIA on Microgenics Corporationin rekisteröimä menetelmä, joka käyttää *E.coli*-bakteerista geneettisesti muokattuja β -galaktosidaasi-entsyymifragmentteja leimana. Menetelmä perustuu kilpailutilanteeseen, joka syntyy näytteen buprenorfiinin ja reagenssista saatavan toiseen inaktiiviseen entsyymifragmenttiin sidotun buprenorfiinikonjugaatin välille (kuva 1). Jos näytteessä on buprenorfiinia, se sitoutuu vasta-aineeseen. Entsyymiaktiivisuuden edellytyksenä on kahden fragmentin, entsyymi-huumekonjugaatin ja entsyymifragmentin sitoutuminen toisiinsa. Jos näytteessä ei ole huumetta, reagenssissa oleva entsyymi-huumekonjugaatti tarttuu vasta-aineeseen, jolloin se ei pääse yhdistymään toisen entsyymifragmentin kanssa. Näytteessä oleva buprenorfiini syrjäyttää entsyymi-huumekonjugaatin kiinnittymisen vasta-aineeseen, aiheuttaen entsyymi-huumekonjugaatin ja entsyymifragmentin

uudelleenkiinnittymisen. Uudelleenmuodostunut entsyymi hydrolysoi eli pilkkoo substraatin, klorofenolipuna- β -galaktoosin (CPRG), klorofenolinpunaksi (CPR) ja galaktoosiksi, joka näkyy mittauksessa absorbanssin nousuna. Reaktiosta syntynyt värillinen tuote mitataan spektrofotometrisesti aallonpituudella 570 nm. (Smith 2016, 160; Fimlab 2016a.)



KUVA 1: CEDIA-menetelmän toimintaperiaate (Smith 2016, 160, muokattu).

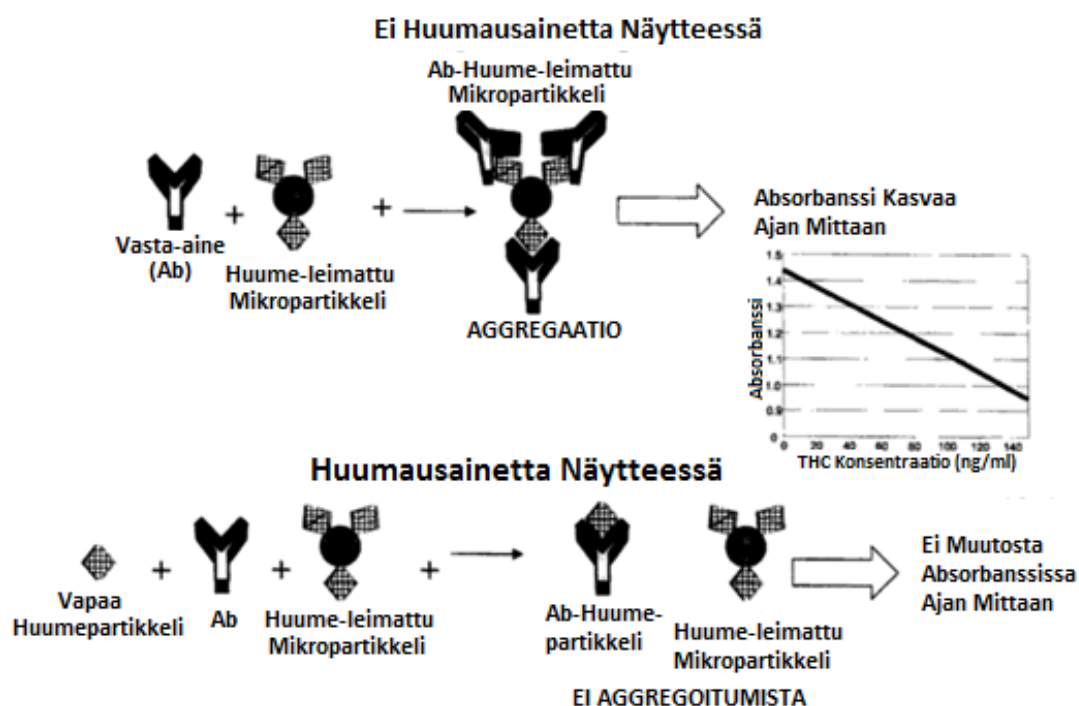
CEDIA-menetelmän käytössä on lukuisia hyviä puolia. Ensinnäkin reagenssien säilyvät käyttökelpoisina yli vuoden ajan. Menetelmän entsyymiaktiivisuus pysähtyy lähes täysin vasta-ainesitoutumisen estäessä entsyymien uudelleenkiinnittymisen. Tämä ilmiö on suorassa yhteydessä leimatun huumeen vapautumiseen, siitä seuraavan entsyymien uudelleenkiinnittymiseen ja värillisen tuotteen syntymiseen verrattaessa mitattavaan huume-konsentraatioon. Detektoitava mittauskäyrä on lineaarinen lukuisissa eri konsentraatiomäärittämissä. (Smith 2016, 160.)

Toisella aallonpituudella monitoroimalla (660nm) saadaan varmuutta tuloksiin, koska se estää interferenssiä aineilta, jotka voivat imeä valoa tavallisella aallonpituudella mitattaessa (570nm). Absorbanssin muutos nesteessä mitataan ajan funktiona eli määrällisenä mittauksena. Absorbanssit häiritsevistä tuotteista eivät yleensä muutu ajan kanssa ja niiden vaikutus on minimaalinen.

Vaikka CEDIA-menetelmät vastustavat hyvin häiriöitä, niihin voi vaikuttaa vierasaineilla, jotka aiheuttavat vääriä negatiivisia tuloksia. Menetelmästä saatu positiivinen tulos indikoi vain buprenorfiinin tai ristireaktantin läsnäoloa näytteessä, eikä tuloksista voi määrittellä, onko ainetta käytetty terapeutista vai viihdekäyttöä varten. Menetelmä sopii vain virtsanäytteiden mittaamiseen. (CEDIA Buprenorphine Assay 2016; Smith 2016, 160–161.)

5.3 Kinetic Interaction of Microparticles in Solution – menetelmä (KIMS)

KIMS eli Kinetic Interaction of Microparticles in Solution –menetelmässä käytetään mikropartikkeleja, jotka on leimattu usealla mitattavalla huumekonjugaatilla (kuva 2). Kun näytteestä puuttuu tutkimuksen kohteena olevaa huumausainetta, mikropartikkeli-huumekonjugaatit sitoutuvat useisiin vasta-ainemolekyyleihin (Ab) ja muodostavat suuria aggregaatteja, jotka hajottavat läpikulkevaa valoa. Kun aggregoituminen eli antigeeni-vasta-aine-liitosten muodostuminen etenee, syntyy myös muutos valon absorbanssissa eli läpäisevyydessä. Näytteestä tulleet vapaat huumepartikkelit tarttuvat vapaisiin vasta-aineisiin estäen niiden kiinnittymistä huume-leimattuihin mikropartikkeleihin, jotka muodostaisivat suurempia aggregaatteja. Tämän seurauksena absorbanssin nousu hidastuu, joka on suhteellinen näytteessä olevaan huumausaineen konsentraatioon. Huumausaineen läsnäolo näytteessä saa aikaan käyrämuutoksen absorbanssin mittauksessa, jonka seurauksena kaaviossa muodostuu negatiivinen mittauskäyrä. Muutokset valon läpäisevyydessä voidaan myös mitata, jolloin saadaan parabolisia käyriä positiivilla aalloilla. (Smith 2016, 161; Kaufman 2002, 23.)



KUVA 2: KIMS-menetelmän periaate (Smith 2016, 161, muokattu).

KIMS-menetelmiin liittyy useita hyviä puolia. KIMS on halpakäyttöinen homogeeninen tutkimus. KIMS-menetelmän reagenssit säilyvät pitkään (yleensä yli vuoden). Mikropartikkeli-huumeconjugaatti-sidokset ovat vakaampia kuin entsyymi-huumeconjugaatti-sidokset. Aineet, jotka sekaantuvat KIMS:in agglutinaatioprosessiin, aiheuttavat yleensä vääriä positiivisia tuloksia. Tätä voi pitää etuna seulontasuuntautuneissa tutkimuksissa, joissa saatu positiivinen tulos lähetetään varmistusanalyysiin. Toiset menetelmät, kuten EMIT, aiheuttavat vääriä negatiivisia tuloksia eikä näytettä voida identifioida varmistusanalyysissä. (Smith 2016, 161–162.)

Menetelmään sisältyy myös joitain heikkouksia. Mikropartikkeliliuos KIMS-menetelmissä tarttuu analysaattorin putkistoon vaatien erityistä ylläpitoa ja huoltoa. Lineaarinen kantama KIMS-menetelmissä on yleensä lyhyempi kuin EMIT- ja CEDIA –menetelmissä. KIMS-menetelmää käytettäessä olisi olennaista varmistaa ensivaiheessa seulotut näytteet, koska joidenkin näytteiden aiheuttamat väärät positiiviset tulokset ovat seurausta saman rakenteisten, mutta eri molekyylien ristireagoimisesta vasta-aineiden kanssa. (Smith 2016, 162.)

5.4 Ristireagoiminen

Immunologisissa seulontatesteissä voi tulla väärää positiivisia tuloksia esimerkiksi risti-reaktioiden seurauksena. Esimerkiksi positiivinen tulos amfetamiinille voi johtua muista amfetamiinijohdannaisista sekä lääkeaineista kuten efedriinistä, fenyylipropanoliamiinista, pseudoefedriinistä, selegiliinista tai fenfluramiinista. Virheellisesti opiaattipositivinen tulos voi johtua yskänlääkkeestä, joka sisältää esimerkiksi kodeiinia, folkodiinia tai etyylimorfiinia. Myös difenoksylaatti, dekstrometorfaani, ranitidiini ja atropiini voivat aiheuttaa positiivisen ristireaktiotuloksen.” (Huumeseuonta 2016; Huumeseuonta 2015.)

Ristireaktioihin liittyvissä tutkimuksissa kohdataan toinen erityinen ongelma immunologisiin menetelmiin liittyen. Suurin osa immunologisten menetelmien tuottajista selvittävät menetelmiä mahdollisesti häiritsevät aineet ja listaavat nämä pakkausselosteisiin ennen kuin menetelmät hyväksytään markkinoitaviksi. Itsenäiset tutkijat laajentavat näitä tutkimuksia ja julkaisevat laajemman listan ristireaktioita aiheuttavista yhdisteistä. Kuitenkin nämä yhdisteet voivat muuttua alkuperäisen aineen analogeiksi eli johdannaiseksi ihmisen metabolian seurauksena, eikä näitä johdannaisia ole yleensä valmiina tutkimuksia varten. Nämä yhdisteet ovat usein kohonneina virtsassa ja voivat huomattavasti vaikuttaa virtsatestien tuloksiin. (Smith 2017, 166.)

Useat bentsodiatsepiinit metaboliisoituvat farmakologisesti aktiivisiksi aineenvaihduntatuotteiksi, jotka poistuvat elimistöstä virtsan kautta pääosin glukuronidaasi-konjugaatteina. Alkuperäisen aineen metaboliisoituessa poistuu ainetta alkuperäisessä muodossaan vain vähäisinä määrinä. Toisaalta uudemmat ja vahvemmat bentsodiatsepiineja, jotka ovat terapeuttisesti toimivampia pienemmillä annoksilla, on havaittu muuttumattomina virtsassa pieninä määrinä. (Klette ym. 2005, 2.) Immunologisessa menetelmässä käytettävä β -glukuronidaasi-entsyymi vahvistaa bentsodiatsepiinien ristireaktiivisuutta joihinkin bentsodiatsepiinien glukuronisoituihin metaboliitteihin, jolloin metaboliittien detektio tarkentuu (Benzodiazepines II 2009, 1).

5.5 Reseptilääkkeet väärin positiivisten aiheuttajina

Huumeaseulontamenetelmien tuottajat testaavat rakenteellisesti samankaltaisia yhdistelmiä osoittaakseen menetelmien analyttisen spesifisyyden eli tarkkuuden. Testausten tekeminen voi johtaa väärään varmuuden tunteeseen, koska suurin osa toksikologisista testeistä kliinisissä laboratorioissa suoritetaan virtsanäytteistä ja monet lääkkeet poistuvat elimistöstä lääkemetaboliitteina eli aineenvaihduntatuotteina. Sen vuoksi alkuperäisen lääkeyhdistelmän mittaaminen ei ole riittävää osoittaakseen, ettei ko. lääke häiritse menetelmää. (Petrie ym. 2012, 1631.)

Tiettyjen reseptilääkkeiden on todettu aiheuttavan vääriä positiivisia tuloksia tietyissä seulonnoissa. Esimerkiksi metadonia mittaavassa KIMS –menetelmässä vääriä positiivisia tuloksia on todettu aiheuttavan muun muassa klooripromatsiini, klomipramiini ja tiordatsiini. Muiden tyypillisimpien antipsykoottisten lääkkeiden ei ole todettu aiheuttavan ristireagoimista ko. menetelmässä. (Brahm ym. 2010, 1348.)

Bentsodiatsepiinien suhteen vääriä positiivisia voivat aiheuttaa useat eri lääkkeet, kuten serotoniinin takaisinoton estolääke (SSRI) sertraliini (Zoloft ym.) sekä non-steroidinen anti-inflammatorinen lääke (NSAID) oksaprotsiini (Daypro ym.) olisivat osatekijöinä tai mahdollisesti pääsyitä vääriin positiivisiin tuloksiin. Oksaprotsiinin ristireagoimisen mahdollisuuden on kuitenkin todettu olevan pieni. (Ferguson & Mosher 2015.)

Ensivaiheen huumeaseulonta-analyysin jälkeen akkreditoidussa laboratoriossa varmistettu positiivinen tulos merkitsee sitä, että näytteessä on todettua ainetta. Positiivinen tulos ei toisaalta merkitse sitä, että näytteen antanut henkilö olisi ollut näytettä antaessaan aineen vaikutuksen alaisena. Tuloksista ei myöskään voida päätellä, milloin huumeainetta on käytetty. Testistä ei myöskään voida arvioida sitä, onko näytteen antanut henkilö kokeiluvai ongelmakäyttäjä eikä sitä olisiko todettu aine huumeidenkäytöstä peräisin. Esimerkiksi Parkinsonin taudin hoidossa käytetystä selegiliinistä muodostuu elimistön aineenvaihduntatuotteina metamfetamiinia ja vähäinen määrä amfetamiinia. Myös nenätukoksen avaaja pseudoefedriini ja painonpudotukseen käytetty lisäaine synefriini ovat rakenteeltaan amfetamiinin kaltaisia. Lisäksi yskän- ja kipulääkkeenä käytetystä kodeiinista ja etyyliomorfiinista sekä unikonsiemeniä sisältävistä leivonnaisista voivat aiheuttaa morfiinipositiivisen tuloksen. Immunologiset testit ja jopa varmistusanalyysit voivat myös an-

taa positiivisia tuloksia passiivisesti kannabista polttaneiden eli kannabissavun kyllästä-
mässä huoneilmassa oleskelleiden henkilöiden virtsanäytteistä. (Seppälä ym. 2008, 116–
117; Petrie ym. 2012, 1631.)

5.6 Testien manipulaatio ja väärät negatiiviset

Virtsatestiä antaessa voi testattava valvotusta näytteenotosta huolimatta pyrkiä manipu-
loimaan virtsan huumetestinäytettä siten, että testituloksena antaa (väärän) negatiivisen tulok-
sen. Esimerkiksi testattava voi pyrkiä laimentamaan virtsanäytettä juomalla runsaasti
vettä ennen näytteen antamista, antaa näytteeksi keinotekoista virtsaa tai pyrkiä muutta-
maan virtsan pH:ta. (Fimlab 2016b.) Laimeasta virtsasta ei aina löydy sellaista määrää
huumausainetta, joka antaisi positiivisen testituloksen (Seppälä ym. 2008, 104). Virtsan-
näytteen manipulaatiota varten on nykyään erillinen testi, jonka tarkoituksena on osoittaa
negatiivista testitulosta tulkittaessa näytteen analyysikelpoisuus (Fimlab 2016b).

Testissä mitataan kolmea eri tekijää: virtsan kreatiniiniarvot, virtsan suhteellinen tiheys
ja virtsan pH, joille kullekin on omat raja-arvonsa. Testin raja-arvot perustuvat STM:n
Huumausainetestaussuositukseen työelämässä (Sosiaali- ja terveysministeriön julkaisuja,
2006:2) ja Labquality Oy:n huumeanalytiikkatyöryhmän vuonna 2008 julkaisemaan suo-
situkseen huumetestauksen suorittamisesta. (Seppälä ym. 2008; Fimlab 2016b.)

Huumausaineseulonnessa käytettävään näytteeseen voidaan lisätä aineita, jotka estävät
ensivaiheen immunologista huumetestiä toimimasta, jolloin seurauksena on väärä negatiivinen
tulos. Tällaisia aineita ovat esim. valkaisuaine, saippualiuos, sooda, nitriitti, eri-
laiset hapot, hypokloriitti, bikarbonaatti, keittosuola, tetrytsoliini-silmätipat, viinihappo
sekä –etikka. (Seppälä ym. 2008, 105.)

Vääriä negatiivisia tuloksia aiheuttavat tietyt aineet riippuen siitä, kuinka häiritsevä aine
toimii tietyn huumausaineseulonnan analyysimenetelmän kanssa. Toiset aineet vai-
kuttavat toiseen menetelmään, kun taas toisessa menetelmässä niillä ei ole vaikutusta.
Seuraavan sivun taulukko (taulukko 3) ilmaisee eri aineiden vaikutusta erilaisiin analyysimenetelmiin ja ilmaisee, mitkä aiheuttavat vääriä positiivisia sekä vääriä negatiivisia tuloksia. Taulukon kirjainten ja lyhenteiden selitykset löytyvät taulukon alta. (Smith 2016, 157.)

TAULUKKO 3. Esimerkkejä eri vierasaineiden vaikutuksista eri immunologisten testien tuloksiin (Smith 2016, 157, muokattu).

Immunologiset testit					
Adulterantti	Amp	Bzd	Coc	THC	Opi
NaCl	E	E	E	E	E
Viinietikka	ERK	EK	EK	EFRK	ERK
Valkaisuaine		<u>F</u>	C	EFCKR	R
Nestemäinen putken- avausaine			F		ER
Viemärinpuhdistus- aine (Drano)	EFCK <u>R</u>	ECK	EFCK <u>R</u>	EFCK <u>R</u>	EFCK <u>R</u>
Detergentti/saippua	EC <u>R</u>	ECK	EFCK <u>R</u>	<u>EFC</u> <u>R</u>	EC <u>R</u>
Bentsalkoniumkloridi	E <u>F</u>	E	CE	ECK <u>R</u>	E
Hurmejuuri (Golden Seal)	C			EFCKR	
Glutaraldehydi	E <u>KR</u>	E <u>RK</u>	E <u>R</u>	EFC <u>R</u>	E <u>R</u>
Kaliumnitriitti	E <u>RK</u>	E <u>RK</u>	E <u>R</u>	E <u>RK</u>	E <u>RK</u>
DETOX				EFRK	

Aineiden lyhenteet:

Amp = Amfetamiini

Bzd = Bentsodiatsepiinit

Coc = Kokaiini

THC = Kannabis

Opi = Opiaatit (myös buprenorfiini)

Menetelmien lyhenteet:

C = CEDIA

E = EMIT

F = FPIA

K = KIMS

R = RIA

Alleviivatut kirjaimet indikoivat väärää positiivista tulosta.

Kirjaimet ilman alleviivauksia indikoivat väärää negatiivista tulosta.

DETOX viittaa kaupalliseen kannabiksen detoksikaatiojuomaan.

6 VARMISTUSANALYYSIMENETELMÄT

Seulonnassa positiiviseksi todettujen näytteiden varmistuksessa tulee uusinta-analyysi toteuttaa toimintaperiaatteeltaan erilaisella menetelmällä. Tämä tulee tehdä samasta näytteestä kuin ensivaiheen seulontakin. Varmistusanalyysin avulla saadaan yksityiskohtaista ja luotettavaa tietoa näytteen sisältämistä yhdisteistä ja niiden määristä. (Leinonen 2013, 13.)

Positiivinen ensivaiheen seulontanäyte on varmennettava, jos tuloksesta saattaa olla juridisia seurauksia. Tällöin noudatetaan yleensä normaalia tiukempia menettelytapoja testiin joutuneen ja testin tehneen osapuolen oikeusturvan takaamiseksi. Varmistusanalyysi tullessaan suorittamaan myös silloin, kun testattava henkilö kiistää analyysin tuloksen. Jos potilas itse myöntää huumeenkäytön, voidaan ensivaiheen positiivista seulontatulosta yhdessä potilaan ilmoituksen kanssa pitää riittävänä. Tällöin positiivinen löydös voidaan kirjata sairaskertomukseen (virallinen asiakirja). Muutoin tulos olisi syytä varmistaa, koska väärä tulos sairaskertomuksessa voi muun muassa aiheuttaa testatulle henkilölle myöhemmin erilaisia sosiaalisuuksia käsiteltäessä merkittävää haittaa. Näytteen jätettäessä ilman varmennusta tulee huomioda, että testattava henkilö saattaa myöhemmin kieltää huumeiden käytön. (Seppälä ym. 2008, 111.)

6.1 Kaasukromatografia-massaspektrometrinen menetelmä (GC-MS)

Fimlab Laboratoriot Oy lähettää ensivaiheen seulonnasta tulleet positiiviset näytteet alihankintana Yhtyneet Medix Oy-laboratorioon Helsinkiin. Varmistustutkimus on tarkoitettu positiiviseksi osoittautuneen ensivaiheen huumausaineseulonnan jatkotutkimukseksi. Varmistus toteutetaan kaasukromatografi-massaspektrometrillä (GC/MS) menetelmällä. (Päri 2015.)

Massaspektrometriassa on kyse massajakaumasta. Massaspektrometrissä tutkittava yhdiste ionisoidaan positiiviseksi ioniksi eli molekyyli-ioniksi, jolla on ylimääräistä energiaa. Energian vaikutuksesta ionisoituneen molekyylin sidokset katkeavat ja molekyyli-ioni pilkkoutuu pienemmiksi kappaleiksi, joita kutsutaan massafragmenteiksi. Massa-

spektrometri erottelee massafragmentit toisistaan niiden massa-varaussuhteen (m/z) mukaisesti. Massafragmentit voivat myös olla neutraaleja partikkeleja, joita massaspektrometri ei havaitse. (Jaarinen & Niiranen 2005, 122.)

Massaspektraalinen analyysi suoritetaan mittaamalla analyyttia, joka on muunnettu ioneiksi kaasufaasissa. Neutraaleihin molekyylihin verrattuna ioneja on suhteellisen helppoa manipuloida, koska niihin voi vaikuttaa magneettisia ja elektrostaattisia kenttiä hyödyntäen, jotka mahdollistavat ionien eristämisen suurella tarkkuudella eli spesifisyydellä. (Cody & Vorce 2016, 171.)

Massaspektrometria on hyvin herkkä menetelmä, joka soveltuu hivenaineanalyyseihin. Tyypillisesti massaspektrometri on liitettyä kromatografiin, jolloin yhdisteiden erotteleminen ja kromatografinen analyysi tukevat massa-analyysiä. Massaspektrometrin signaali on verrannollinen ionien määrään ja on siten verrannollinen alkuperäiseen näyttemolekyylien määrään. Näytteen ollessa tunnettujen yhdisteiden seos voidaan summaspektri laskea eri komponenttien spektreistä. Spektrin kerroin kuvastaa kyseisen yhdisteen osuutta näytteessä. (Jaarinen & Niiranen 2005, 122.)

Kaasukromatografia-massaspektrometriallla voidaan nopeasti ja luotettavasti tunnistaa kaasukromatografisesti erotellut yhdisteet massaspektrien perusteella. Näyte soveltuu analysoitavaksi massaspektrometrillä sen ollessa analysoitavissa kaasukromatografialla. Tekniikalla on mahdollista analysoida yhdisteitä, jotka höyrystyvät riittävästi ja kestävät kaasukromatografian lämpötilat. (Jaarinen & Niiranen 2005, 207.)

Yhdisteiden erottuminen kromatografiassa perustuu aina tasapainoihin. Jakautuminen tapahtuu kromatografiakolonnissa tai –levyllä, jossa kaksi toisiinsa liukenematonta faasia, stationäärifaasi ja liikkuva faasi, ovat vuorovaikutuksessa toistensa kanssa. Näyttemolekyylit tarttuvat toistuvasti stationäärifaasiin ja irtoavat siitä liikkuvaan faasiin, jolloin ne ovat dynaamisessa tasapainossa faasien välillä. Liikkuva faasi on joko neste tai kaasu, stationäärifaasi on neste tai kiinteä aine. Liikkuvan faasin ollessa kaasu, stationääri on joko neste (GLC) tai kiinteä (GSC). Nestemäisen faasin tapauksessa tasapainoon vaikuttavat liukoisuus stationäärifaasiin ja höyrystyminen liikkuvaan faasiin. Kiinteässä faasissa erottumisen aiheuttavat molekyylien erilaiset adsorptio-ominaisuudet stationäärifaasiin ja höyrystyminen liikkuvaan faasiin. Näitä faaseja käytetään sekä neste- että kaasukromatografiassa. (Jaarinen & Niiranen 2005, 140–141.)

Massaspekttrin mittauksessa tutkittava yhdiste ionisoidaan ionisaattorissa. Molekyyleistä vain suhteellisen pieni osa ionisoituu ja hajoaa pienemmiksi massafragmenteiksi. Syntyneet ionit kiihdytetään lentämään massa-analysaattoriin, joka erottelee ionit toisistaan. Ionilla on yleensä yhden arvoinen positiivinen varaus, joten erottelu tapahtuu käytännössä ionin massan perusteella. Massa-analysaattorin toiminta pohjautuu sähkö- ja magneettikentän vaikutukseen ionin lentorataan. (Jaarinen & Niiranen 2005, 123.)

Kaasukromatografiassa haihtuvat yhdisteet kulkevat liikkuvan faasin eli kantajakaasun mukana kullekin yhdisteelle tunnusomaisella nopeudella. Erityisellä ilmaisimella eli detektorilla yhdisteet saadaan näkyville ”piikkeinä” kaasukromatogrammissa. Menetelmä soveltuu näytteille, joissa on injektoitavissa näytemäärässä vähintään mikrogrammaluokkaa oleva määrä haihtuvaa yhdistettä. (Lehtonen & Sihvonen 2004, 143.)

Kaasukromatografi yhdistetään suoraan massaspektrometriin. Massaspektrometrin erottelemat yhdisteet lentävät vuorollaan kunkin retentioajan mukaisesti kapillaarikolonnin päästä massaspektrometrin ionisaattoriin. Kolonnista tulevaa kaasuvirtaa ionisoidaan jatkuvasti ja siitä mitataan massaspektrejä esim. 10 ms välein. Spektrit tallentuvat automaattisesti tietokoneen muistiin. Ensimmäisenä kolonnista eluoituu höyrystynyt liuotin. Ionisaattorissa olevat jännitteet kytketään päälle vasta liuottimen mennessä massaspektrometrin läpi. Tähän kuluu noin 2 minuuttia. Yhdisteen päättymistä detektorille mittauksen aloituksesta alkaen kutsutaan retentioajaksi. Kromatogrammin mittauksessa käytetään joko TIC-menetelmää (total ion chromatogram) tai SIM-menetelmää (selected –ion monitoring). (Jaarinen & Niiranen 2005, 142, 207.)

6.2 Väärät positiiviset ja negatiiviset tulokset GC/MS menetelmässä

Myös varmistusmenetelmistä voi aiheutua niin vääriä positiivisia kuin vääriä negatiivisia tuloksia. Näiden eliminoimiseen on tärkeä huomioida näytteiden käyttäytymistä (esim. lämpöhajoaminen) sekä derivatisoivien reagenssien käyttämistä. (Jenkins 2016, 37–38; Yinon 1995, 45.) Esimerkiksi amfetamiinien varmistuksessa vääriä positiivisia tuloksia voi tulla käytettäessä vääriä ekstraktiojohdannaisia, kuten heptafluorobutyyristä anhydridiä tai N-trifluoroasetyyli-1-prolyylikloridia, joita käytettäessä muodostuu metamfeta-

miinia efedriinin tai pseudoefedriinin lämpökonversiossa. Tämä yleensä tapahtuu korkeissa lämpötiloissa ja silloin kun näytteessä on huomattavat määrät pseudoefedriiniä tai efedriiniä. (Jenkins 2016, 37.)

Oikeanlaisten kaasukromatografi-massaspektrometrinen menetelmien kehittäminen bentsodiatsepiinilääkkeitä mitattaessa on ollut haasteellista, koska menetelmiä on olemassa lukuisia erilaisia rakenteeltaan ja vahvuuksiltaan. Kehitystyötä on helpottanut lukuisista eri bentsodiatsepiineistä ja niiden metaboliiteista tehdyt massaspektriset kokoonpanot. Ongelmia varmistusanalytiikassa aiheuttaa muun muassa se, että mitattaessa näytettä suoraan GC/MS-analytiikkaa käyttäen, näytteen bentsodiatsepiinit hajoavat laitteen lämpösäteilyn seurauksena. Lisäksi monet bentsodiatsepiinit muuttuvat nopeasti kehossa vastakkaisiksi metaboliiteiksi, jotka eivät ole käytettäviä GC/MS –analytiikassa ilman derivatisaatiota. Bentsodiatsepiinien muuttaminen bentsofenoneiksi antaa eri luokan yhdistelmiä, jotka on yleisesti helpompi analysoida GC/MS:llä. Toisaalta tiettyjen bentsodiatsepiinien tunnistaminen ei ole mahdollista, koska useampi kuin yhden tyyppinen bentsodiatsepiini voi muuttua samaksi bentsofenoniksi. (Yinon 1995, 45.)

Opiaattimittauksissa voidaan havaita häiriöitä opiaattimetaboliiteista ja semisynteettisistä 6-keto-opioideista kuten hydromorfiinista, hydrokodonista, oksimorfiinista ja oksikodonista. Tämän hetkiset työpaikan huumeaselontamenetelmät mittaavat myös 6-asetyyli-morfiinia, joka on heroiinin metaboliitti. Opiaattien analytiikassa käytettävä derivatisoiva reagenssi pitää valita huolellisesti, koska jotkin opiaatit muodostavat samankaltaisia derivatiiveja. Esimerkiksi asetyyllisiä derivatiiveja käytettäessä sekä morfiini ja 6-asetyyli-morfiini konvertoituvat heroiiniksi (diasetyylimorfiini), jolloin alkuperäisiä kemikaaleja ei voida tunnistaa. (Jenkins 2016, 38.)

Ihmisillä huumausaineiden metaboliaan kuuluu huumausaineen hajoamisprosessi sekä monessa tapauksessa konjugoituminen. Konjugoituneet huumeet ja metaboliitit monitkistavat uuttoa niiden liukenevuuseroavaisuuksien ja hydrolysointia vaativien tekijöiden vuoksi. (Yinon 1995, 2.)

7 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Tutkimuksessa ja sen aineiston keräämisessä voidaan käyttää joko kvalitatiivista eli laadullista tai kvantitatiivista eli määrällistä tutkimusmenetelmää. On mahdollista myös yhdistää tutkimusmenetelmiä ja ne voivat täydentää toisiaan, mutta pääpaino on yleensä toisella näistä menetelmistä. Kvantitatiivista eli määrällistä menetelmää käyttävässä tutkimuksessa kuvataan ja tulkitaan ilmiöitä mittaussmenetelmillä, jotka keräävät numeerisia tutkimusaineistoja. (Vilpas 2014, 2.)

Kvantitatiiviset tutkimukset pohjautuvat positivismiin. Positivistisen tiedekäsityksen mukaan ihmisen yksilöllisen ja yhteisöllisen käyttäytymisen tai toiminnan tutkimuksessa tulee menetellä samalla tavalla kuin minkä tahansa muun todellisuuteen pohjautuvan ilmiön tieteellisessä tutkimuksessa. Tämä merkitsee, että on pyrittävä tutkittavan ilmiön kvantitatiiviseen mittaamiseen ja sitä hallitsevien sekä sen käyttäytymistä selittävien kvantitatiivisten lakien löytämiseen ja todistamiseen. (Tuomivaara, 2005, 2.)

Kvantitatiivinen tutkimus voi tapahtua joko kokonais- tai otantatutkimuksena. Kokonaistutkimuksessa tutkitaan jokainen perusjoukon eli populaation jäsen, kun taas otantatutkimuksessa tutkitaan vain pieni osa perusjoukosta. (Heikkilä 2014, 23.) Otantatutkimuksen käyttämistä voidaan harkita silloin, kun kokonaistutkimusta edellyttävä valmis tilastoaineisto puuttuu. Kokonaistutkimus on usein hitaampi, hankala ja kallis toteutuksen puolesta, mutta tulokset ovat vastaavasti yleensä luotettavia ja tarkkoja. Otos on osa perusjoukosta, joka on valittu siten, että jokaisella perusjoukon alkiolla on sama todennäköisyys ja mahdollisuus tulla otokseen. Otoksesta vastaanotetut tutkimustulokset yleistetään koskemaan koko perusjoukkoa. Otantatutkimus on tehtävissä silloin, kun perusjoukko on suuri, resursseja ei ole tarpeeksi eikä perusjoukon tilastoyksiköitä tunneta tarkasti. Otantatutkimuksessa tiedot saadaan nopeasti ja edullisesti. Otannan suunnittelussa on otettava huomioon tarvittavan tiedon laatu ja tarkkuusvaatimus. Otoksen koon kasvaessa yleensä myös tulokset tarkentuvat. (Vilpas 2014, 9; Heikkilä 2014, 24.)

Yleisenä sääntönä pidetään 30 yksikön otosta määrällistä tutkimusta käytettäessä. Koko riippuu kuitenkin oleellisesti tutkimuksen tyypistä. Esimerkiksi mielipidetutkimuksissa otoksen suuruus tulisi olla 1000 suuruusluokkaa, kun taas lääketieteellisessä kokeessa otokseksi voi riittää muutama kymmentä tulosta. Otantatutkimuksessa käsitellään vain

pientä osaa perusjoukosta. Koska varmistusanalyysistä saadut tulokset ovat satunnaisia perusjoukosta saatuja tuloksia, voidaan otantamenetelmää pitää yksinkertaisena satunnaisotantana. (Vilpas 2014, 9.)

Kvantitatiiviseen tutkimukseen kuuluu myös tilastotieteellinen tutkimus. Tilastotieteessä pyritään tiivistämään ja selittämään numeroaineistoa tilastollisia tunnuslukuja käyttäen. Samoin muuttujien välisten riippuvuuksien etsiminen, ilmiöille selityksen löytäminen ja kehityksen ennustaminen voivat olla tavoitteita analyysille. Raakatilastot sisältävät liikaa lukuja, jotta niiden perusteella pystyttäisiin tekemään kattavia päätelmiä tutkimuksen kohteena olevan ilmiön piirteistä. Nykyään aineistot analysoidaan tietokoneohjelmien, kuten SPSS:n ja Excelin avulla. Tutkimusaineiston tulee olla riittävän suuri ja edustava, jotta tutkimuksessa saatuja tuloksia voidaan pitää luotettavina. (Vilpas 2014, 2.)

Tilastotieteessä pyritään empiirisesti eli havaintojen avulla hankkimaan, keräämään, järjestämään ja esittämään tietoa. Lisäksi empiirisluontoista tietoa pyritään analysoimaan ja tulkitsemaan, toisin sanoen pyritään suorittamaan inferenssiä eli tilastollista päättelyä. Tilastollinen päättely on luonteeltaan induktiivista, jolloin osajoukkoa koskevat tulokset yleistetään koskemaan koko perusjoukkoa. Empiirisessä ilmiössä voi vaikuttaa systemaattiset tai johdonmukaiset tekijät (deterministinen ilmiö) tai satunnaiset tekijät (satunnaisilmiö), jolloin ei voida etukäteen ennakoida tietyn ilmiön käyttäytymistä. (Gustafsson 2011.)

Kvantitatiiviseen tutkimukseen liittyy myös kausaalinen tutkimus. Kausaalisella tutkimuksella pyritään selvittämään ilmiöiden välisiä riippuvuuksia ja kausaalisuutta eli syyseuraussuhteita. Opinnäytetyössäni pyrin pohtimaan syitä, miksi joistakin aineista tulee enemmän vääriä positiivisia kuin toisista aineista. Muuttujien välisiä riippuvuuspäätelmiä yleistettäessä tarvitaan laaja aineisto luotettavien tulosten saamiseksi. (Heikkilä 2014, 10.)

8 OPINNÄYTETYÖPROSESSI

Aloitin opinnäytetyön työstämisen kesäkuussa 2016. Tapasimme työelämän yhteyshenkilön kanssa Tampereen Fimlab Laboratoriot Oy:n tiloissa, jossa kävimme läpi opinnäytetyön aihetta. Sain tapaamisen yhteydessä varmistusanalyysin tulokset sisältävän Excel-tiedoston, josta näkyi näytteet kolmen kuukauden (01.10.2015 – 31.12.2015) ajalta. Tutustuin toisella käynnillä huumausaineanalyysiä suorittavaan laitteistoon. Opinnäytetyön alkuvaiheella työstin opinnäytettä toisen kurssimme oppilaan kanssa, mutta päätimme tehdä opinnäytetyöt omista aiheista.

Syksyllä 2016 olin työharjoittelussa kyseisissä laboratorioissa, jolloin pääsin tutustumaan tarkemmin huumausaineanalytiikan prosessiin sekä näytteiden käsittelyyn näytteenottohetkestä varsinaisen analyysin tekemiseen, tuloksien kirjaamiseen ja eteenpäin lähettämiseen. Harjoittelun aikana sain selvennetyksi huumausaineseulonnan kokonaisprosessia ja analyysilaitteiston toimivuutta, sekä pääsin tutustumaan eri reagensseihin, joita käytetään huumausaineanalytiikassa. Käytännön kautta tutustuminen oli mielestäni tärkeää, koska siitä sai varmuutta teoreettisen tutkimuksen pohjalle.

Opinnäytetyössäni käytän kvantitatiivista tutkimusta menetelmällisenä lähtökohtana. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tulkitaan ilmiöitä mittausmenetelmillä, jossa kerätään numeerisia tutkimusaineistoja. Opinnäytetyön tutkimusta voidaan pitää myös otantatutkimuksena, koska opinnäytetyössäni käsittelen vain pientä osaa huumausaineita käyttävästä kokonaisesta perusjoukosta. Lisäksi kolmen kuukauden aikainen näytemäärä vastaa vain pientä osa kokonaisnäytemäärästä, jotka kulkevat kliinisten laboratorioden huumausaineanalytiikan prosessissa kokonaisuudessaan. Resursseja ei myöskään ole tarpeeksi koko perusjoukon tuntemiseen eikä perusjoukon tilastoyksiköitä tunneta tarkasti. (Vilpas 2014, 9; Heikkilä 2014, 24.)

Opinnäytetyössäni käsittelen näytteitä, joista on saatu kaikista positiivinen tulos ensivaiheen seulonnassa, jolloin kolmen kuukauden otantaa varmistusanalyysissä saaduista tuloksista voidaan pitää lähtökohtaisesti hyvänä kvantitatiivisen tiedon lähteenä ensivaiheen analyysimenetelmien luotettavuuden selvittämiseksi. Huumausaineseulontojen tulokset on vastaanotettu kolmen kuukauden (1.10.2015 – 31.12.2015) ajalta. Fimlab Laboratoriot Oy:ltä vastaanotetussa Excel-tiedostossa näkyy 727 näytteen tulosta. Tämä

määrä vastaa vain pientä osaa kliinisten laboratoriodien läpi kulkevasta kokonaisnäyttemäärästä. Kolmen kuukauden ajalta saatuja tuloksia voidaan kuitenkin lähtökohtaisesti pitää suuntaa antavina ensivaiheen huumausaineseulontamenetelmien luotettavuuden arvioimisessa.

Työn alussa loin kopion alkuperäisestä tiedostosta, johon laskin numeraalisesti ja järjestelmällisesti tiedoston vierekkäisiin sarakkeisiin kunkin aineen väärin ja oikeiden positiivisten määrän (kuva 3). Kuvassa näkyy esimerkkikohta lasketusta tiedostosta. A-sarakkeessa näkyy näytteenottopäivämäärä. B ja C-sarakkeissa näkyy tutkimusnumero sekä tutkimusnimike. E-sarakkeessa näkyy näytteen tulos, jossa kuvataan positiivinen vastaus lausunnon kautta, väärä positiivinen näkyy nimellä NEGAT. Toisin sanoen, ensivaiheen tutkimuksessa saadut väärät positiiviset tulokset näkyvät negatiivisena vastauksena (NEGAT) varmistusanalyysin kautta saaduista vastauksista. Tiedoston oikeanpuolisia sarakkeita käytin järjestelmälliseen tulosten määrälliseen laskemiseen. D-sarakkeessa on tummennettuna väliaikaiset potilasnumerot.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
189	18.11.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: EI TEHTY Analyysii ei voitu tehdä näytteen poikkeavan käyttäytymisen vuoksi.						
190	3.11.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote			84			
191	9.10.2015	1880	U -CannaCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: kannabiksen aineenvaihduntatuote						27
192	9.10.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			85			
193	24.11.2015	1820	U -BendiCt		Vastaus: NEGAT						
194	24.11.2015	1820	U -BendiCt		Vastaus: NEGAT						
195	8.12.2015	1820	U -BendiCt		Vastaus: NEGAT						
196	3.10.2015	1902	U -OpiaaCt		Vastaus: NEGAT						
197	15.10.2015	1810	U -AmfetCt		Vastaus: NEGAT						
198	15.10.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini naloksoni			86			
199	16.10.2015	1810	U -AmfetCt		Vastaus: NEGAT						
200	16.10.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini aineenvaihduntatuote naloksoni			87			
201	25.11.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			88			
202	14.12.2015	1880	U -CannaCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: kannabiksen aineenvaihduntatuote						28
203	3.12.2015	1880	U -CannaCt		Vastaus: NEGAT						
204	20.11.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			89			
205	7.10.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			90			
206	5.11.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			91			
207	14.12.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			92			
208	16.10.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			93			
209	16.12.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			94			
210	22.12.2015	1822	U -BupreCt		Vastaus: LAUSUNTO Näytteestä todetut yhdisteet: buprenorfiini buprenorfiinin aineenvaihduntatuote naloksoni			95			

KUVA 3: Osanäkymä valmiiksi lasketusta Excel-tiedostosta.

Excel-tiedostosta laskettujen näytteiden lopulliset tulokset tarkistin ja varmistin vielä seuraavan vuoden kesäkuun aikana. Valmiiksi lasketut tulokset kirjasin ylös toiseen Excel-tiedostoon (taulukko 4). Ensiksi laskin positiivisten, lausunnolla vastattujen näytteiden määrän. Näissä vastauksissa ilmeni varmistusanalyysistä saaduista tuloksista samaa tai vastaavaa ainetta, mitä oli havaittu ensivaiheen analyysissä. Tämä tarkoittaa toisin sanoen oikeaa positiivista tulosta. Positiivisten vastauksien luetteloimisen jälkeen laskin varmistusanalyysistä tulleet negatiiviset (NEGAT) vastaukset ja kirjasin ne toiseksi taulukoksi (taulukko 4). ”NEGAT” -tulokset tarkoittavat toisin sanoen väärää positiivista tulosta. Negatiivisten vastausten laskemisen jälkeen laskin hylättyjen näytteiden määrän, joita 727 näytteestä oli 20 kpl. Näytteen hylkäämisen syitä oli useita: pääasiassa joko näyte oli

riittämätön, näytettä ei ollut saapunut tutkittavaksi, potilas oli kieltäytynyt antamasta näytettä tai muuta vastaavaa.

Ensimmäiset tulokset merkitsin erilliseen Excel-tiedostoon laskemisen aikana. Seuraavassa taulukoinnissa (taulukko 4) näkyy valmiiksi lasketut näytteet eri sarakkeissa. A-sarakkeessa näkyy mitattava huumausainetutkimus, esimerkiksi U-BendiCt tarkoittaa bentsodiatsepiinien virtsanäytteen varmistustutkimusta. C-sarake ilmaisee, onko tulos positiivinen vai negatiivinen. D-sarake ilmaisee positiivisten ja negatiivisten näytteiden määrän. E-sarake kertoo väärin positiivisten vastausten prosentuaalisen osuuden suhteessa näytteiden kokonaismäärään. Prosenttiosuuksista on pois luettu hylätyt näytteet. G-sarake kertoo hyväksytyjen näytteiden määrän ja I-sarake ilmaisee, mitä näytteitä ei hyväksytty. Kokonaisnäytemäärä saavutetaan laskemalla näytteiden G- ja I-sarakkeet keskenään.

TAULUKKO 4. Toinen Excel-tiedosto, johon merkittynä laskemisen aikana saadut tulokset.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	U-BendiCt		Pos (lausu	167												
2			Neg	91												
3					35,2% neg		258		11							
4																
5	U-BupreCt		Pos	297												
6			Neg	8	2,6% neg		305		7							
7																
8	U-AmfetCt		Pos	30												
9			Neg	5	14,3% neg		35									
10																
11	U-CannaCt		Pos	82												
12			Neg	8	8,9% neg		90		2							
13																
14	U-OpiaaCt		Pos	16												
15			Neg	3	15,8% neg		19									
16																
17																
18																
19	Näytemäärä kokonaisuudessaan:						727									
20																
21	Näytteet joita ei hyväksytty:						20									
22																
23	Hyväksytyt näytteet:						707			joista negatiivisia:	115		16,3% negatiivisia = 16%			
24																

Viimeisessä laskentavaiheessa tarkistettuani useaan kertaan tulosten oikeellisuuden ja numeraalisen yhteneväisyyden kirjasin tulokset taulukoksi erilliseen Word-tiedostoon selkeyden vuoksi (taulukko 5).

Opinnäytetyö lähetettiin kirjallisena versiona tarkastettavaksi työelämän yhteyshenkilöille Fimlab Laboratoriot Oy:lle elokuun 2017 lopussa.

9 TULOKSET

Excel –tiedostossa oli yhteensä 727 näytettä kolmen kuukauden ajalta (01.10.2015 – 31.12.2015). Näistä 20 kappaletta oli hylättyjä näytteitä, eli tiedosto sisälsi yhteensä 707 hyväksyttyä näytettä.

Amfetamiinia mittaavia näytteitä oli 35 kpl, joista 30 kpl oli oikeita positiivisia ja 5 kpl vääriä positiivisia. Vääriä positiivisia oli 14,3 % suhteessa näytteiden kokonaismäärään.

Bentsodiatsepiineja mittaavia näytteitä oli yhteensä 269 kpl, joista 167 kpl oli oikeita positiivisia ja 91 kpl vääriä positiivisia. Hylättyjä näytteitä oli 11 kpl eli hyväksyttyjä näytteitä oli yhteensä 258 kpl. Vääriä positiivisia oli 35,2 % suhteessa näytteiden kokonaismäärään.

Buprenorfiinia mittaavia näytteitä oli yhteensä 312 kappaletta, joista 297 kpl oli oikeita positiivisia ja 8 kpl vääriä positiivisia. Hylättyjä näytteitä oli 7 kpl eli hyväksyttyjä näytteitä oli yhteensä 305 kpl. Vääriä positiivisia oli 2,6 % suhteessa näytteiden kokonaismäärään.

Kannabista mittaavia näytteitä oli yhteensä 92 kpl, joista 82 kpl oli oikeita positiivisia ja 8 kpl vääriä positiivisia. Hylättyjä näytteitä oli 2 kpl eli hyväksyttyjä näytteitä oli yhteensä 90 kpl. Vääriä positiivisia oli 8,9 % suhteessa näytteiden kokonaismäärään.

Kokaiinia mittaavia testauksia ei ollut yhtään.

Opiaatteja mittaavia näytteitä oli yhteensä 19 kpl, joista 16 kpl oli oikeita positiivisia ja 3 kpl vääriä positiivisia. Vääriä positiivisia oli 15,8 % suhteessa näytteiden kokonaismäärään.

Alla olevassa taulukoinnissa näkyy kunkin huumausainetestin tulokset. Ensimmäiseen vertikaaliseen sarakkeeseen olen merkinnyt testissä käytetyn huumausaineen nimen. Toisessa vertikaalisessa sarakkeessa näkyy testattujen huumausaineiden kokonaismäärä poisluettuna näytteet, joita ei hyväksytty varmistusanalyysiin. Näitä oli yhteensä 20 kappaletta, joista 11 kpl oli bentsodiatsepiinejä, 7 kpl buprenorfiinejä ja 2 kpl kannabista

mittaavia testejä. Väärien negatiivisten tulosten suhdeluku on laskettu verraten kaikkiin hyväksyttyihin lausunnolla oleviin tuloksiin pois lukien hylätyt näytteet, eli 115 väärän positiivisen tulosten suhde 707 näytteeseen, joista 592 näytettä oli oikeita positiivisia, eli $592 / 707 = 83,73 \%$. Kolmanteen vertikaaliseen sarakkeeseen olen merkinnyt kaikki varmistusanalyysistä saadut oikeat positiiviset tulokset ja neljännessä sarakkeessa näkyy oikeiden positiivisten tulosten prosentuaalinen määrä suhteessa kokonaisnäytemäärään. Viidennessä sarakkeessa näkyy väärrien positiivisten määrä ja kuudennessa väärrien positiivisten tulosten prosentuaalinen määrä suhteessa kokonaisnäytemäärään.

TAULUKKO 5. Lopulliset tulokset kolmen kuukauden aikaisista huumausaineseulonnan näytteistä.

Huumausaine	Määrä	Positiiviset	%/pos	Väärät Positiiviset	%/neg
Amfetamiini	35	30	85,7	5	14,3
Bentsodiatsepiinit	258	167	64,8	91	35,2
Buprenorfiini	305	297	97,4	8	2,6
Kannabis	90	82	91,1	8	8,9
Kokaiini	-	-	-	-	-
Opiaatit	19	16	84,2	3	15,8
Summa	707*	592	83,73	115	16,27

* Yhteensä 727 näytettä, joista 20 ei hyväksytty

%/pos = positiivisten näytteiden prosentuaalinen osuus suhteessa hyväksyttyjen näytteiden kokonaismäärään

%/neg = negatiivisten näytteiden prosentuaalinen osuus suhteessa hyväksyttyjen näytteiden kokonaismäärään

Merkittävintä ensivaiheen seulonnan tuloksissa on huomattavan suuri määrä bentsodiatsepiinien vääriä positiivisia tuloksia, jotka oli selvitetty varmistusanalyysissä. Bentsodiatsepiinien väärin positiivisten määrä 258:sta hyväksytystä näytteestä oli 91 kappaletta eli 35,2 % vääriä positiivisia. Bentsodiatsepiineja mitataan yleensä vain ensivaiheen analyysissä ja lähetetään vain pyydettyä varmistukseen (Huumeseulonta, virtsasta 2016).

Muita tuloksia tarkastellessa voisi menetelmien todeta toimivan pääosin hyvin, etenkin buprenorfiinia mittaava CEDIA –menetelmä, jossa 305:sta hyväksytystä näytteestä vain 8 kpl antoi väärän positiivisen tuloksen. Tämä tarkoittaa toisin sanoen, että vääriä positiivisia tuloksia antoi vain 2,6 prosenttia hyväksytyistä näytteistä. Lisäksi buprenorfiinien tuloksia oli huomattavasti eniten, joka viittaisi lähtökohtaisesti CEDIA –menetelmän olevan muita viittä menetelmää luotettavampi. Tietenkin koska kokaiinia mittaavia näytteitä ei ollut kolmen kuukauden ajalta yhtään, jää väärin positiivisten arvioiminen kokaiinia mittaavassa menetelmässä epävarmaksi.

10 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää Tampereen Fimlab Laboratoriot Oy:ssä käytettävien huumausaineseulontojen luotettavuutta. Opinnäytetyön tarkoituksena oli verrata immunologisten määritysmenetelmien tuloksia varmistuksesta saatujen testien tuloksiin ja selvittää menetelmien toiminnan, yleisimmät virhelähteet sekä väärät positiiviset tulokset. Tulokset taulukoitiin opinnäytetyön tulokset -osion loppuun ja laskettiin useaan kertaan tulosten varmistamiseksi.

Huumausaineseulonnoissa on erittäin paljon erilaisia tekijöitä, jotka voivat vaikuttaa lopullisiin tuloksiin. Yhtenä esimerkkinä näistä on ihmisten muista kuin huumeista peräisin olevat luontaiset aineenvaihduntatuotteet, jotka voivat ristireagoida käytettävän menetelmän kanssa. (Smith 2016, 166.) Bentodiatsepiinien aiheuttamat väärät positiiviset ovat kaikista huomionarvoisimpia opinnäytetyön tuloksista. Näiden syitä pohtiessa olen törmännyt useaan vaikuttavaan asiaan: bentsodiatsepiinejä on monia erilaisia ja eri vahvuisia yhdistelmiä markkinoilla, joten bentsodiatsepiineillä on enemmän erilaisia pintarakenteita (EMCDDA 2015). Bentsodiatsepiinien seulontamenetelmässä käytetään polyklonaalisia vasta-aineita (Roche työohje 2017). Polyklonaalisten vasta-aineiden vahvuus ja heikkous on se, että ne pystyvät tarttumaan mitattavan aineen (antigeenin) useisiin eri pintarakenteisiin eli epitooppeihin (Hirzel 2017). Näin ollen useampia eri aineyhdistelmiä mitattaessa on suurempi todennäköisyys, että bentsodiatsepiinin mittauksessa käytettävät vasta-aineet tarttuvat muihin bentsodiatsepiinien kaltaisiin saman rakenteisiin molekyyliin. Tästä seuraisi suurempi väärin positiivisten näytteiden ilmeneminen seulonnoissa.

Muiden huumausaineiksi luokiteltujen aineiden eli amfetamiinien, kannabiksen ja opiaattien tulokset olivat myös suhteellisen korkeat, etenkin kun huomioidaan niistä saatujen näytteiden vähäinen määrä. Varmistusanalyysistä saadut tulokset voivat olla merkittäviä siinäkin tapauksessa, jos väärin positiivisten prosentuaalinen määrä on korkea vähäisten näytemäärien kohdalla. Tällöin olisi cut-off -rajojen uudelleen määrittäminen harkitsemisen arvoista. Jotta saataisiin mahdollisimman tarkat arvot siitä, kuinka paljon vääriä positiivisia tuloksia kukin testi antaa, tulisi mielestäni mitata paljon enemmän näytteitä, mahdollisuuksien mukaan yhtä paljon kuin buprenorfiineja mittaavia näytteitä oli tullut kolmen kuukauden ajalta eli n. 300 kpl.

Koska KIMS-menetelmät aiheuttavat luonnostaan vääriä positiivisia (Smith 2016, 162), voisi olla harkitsemisen arvoista valita pelkkään ensivaiheen seulontaan käytettäväksi eri immunologisia huumetestejä, jotka antaisivat varmemman tuloksen väärin positiivisten sijaan. Tehdyn tutkimuksen perusteella voisi sanoa, että kaikista aiheellisinta olisi määrittellä bentsodiatsepiinien cut-off -arvot uudelleen tai käyttää toista analyysimenetelmää pelkissä ensivaiheen seulontasuuntautuneissa tutkimuksissa, kuten CEDIA-menetelmää, varmempien ensivaiheen tuloksien saamiseksi.

Opinnäytetyöni pohjautuu täysin tutkittuun ja olemassa olevaan tietoon. Mielestäni opinnäytetyöni tulokset ovat erittäin luotettavat niiden pohjautuessa ammattimaisiin lähteisiin, joita on haettu niin kirjallisuudesta kuin kriittisistä internet-sivustoista. Valitettavasti kaikki lähteet eivät ole helposti tavallisen kansalaisen saavutettavissa internetistä (esim. Rochen tuoteselosteet eri huumausainemenetelmistä) ja jos ovat niin voivat olla vaikeasti löydettävissä. Ongelmana myös internet-lähteitä käytettäessä on se, että nettisivut voivat muuttua tai kadota ajan mittaan, joten pidemmällä tähtäimellä on mahdollista, että useat tässä opinnäytetyössä käytettyjen internet-lähteiden sivut voivat muuttua toimimattomiksi.

Tuloksia tarkastellessa voitaisi todeta, että jatkotutkimukset väärin positiivisten tulosten määrästä KIMS-menetelmiä käyttävissä huumausaineseulonnoissa olisivat aiheellisia, joissa voitaisiin ottaa pidemmältä aikaväliltä ja useammasta näytteestä otanta, jotta saataisiin mahdollisimman tarkkaa tietoa siitä, kuinka paljon kukin menetelmä tuottaa vääriä positiivisia kokonaisuudessaan. Kolmen kuukauden ajalta saatujen näytteiden määrä jää joissain määrin vähäiseksi ja vain hieman suuntaa antavaksi suhteessa todellisiin arvoihin. Lisäksi voisi olla hyödyllistä selvittää KIMS-menetelmien ja CEDIA-menetelmien vertailututkimuksia, joita ei valitettavasti löytynyt ilmaisena tai koulun tunnuksien avulla internetistä.

LÄHTEET

Bentsodiatsepiinit (virtsa) 2016.

http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6702;id=14709

Benzodiazepines II, 2009. Roche Diagnostics.

<http://www.fda.gov.tw/MLMS/ShowFile.aspx?LicId=06021241&Seq=002&Type=9>.

Brahm, N., Yeager, L., Fox, M., Farmer, K., Palmer T. 2010. Commonly prescribed medications and potential false-positive urine drug screens.

http://ww2.justanswer.com/uploads/CO/commissure/2014-09-06_013749_prescribed_medications_false_positive_urine_drug_screen.pdf

CEDIA Buprenorphine Assay, 2016.

<https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/10007988-CEDIA-Buprenorphine-Assay-EN.pdf>

Cody, J., Vorce, S., ym. 2016. Principles of forensic toxicology. 4. painos. Washington, DC: AACC-Press.

EMCDDA, 2015. Benzodiazepines drug profile.

<http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/benzodiazepine#availability>

Ferguson, M., Mosher, K., 2015.

<https://www.practicalpainmanagement.com/resources/diagnostic-tests/ask-expert-false-positive-screen-benzodiazepines>

Fimlab 2016a. Ohjekirja. Buprenorfiini.

http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6703;id=14911

Fimlab 2016b. Ohjekirja. Manipulaatiotesti (virtsa).

http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=9389;id=15388

Forsell, M., Virtanen, A., Jääskeläinen, M., Alho, H., Partanen, A. 2010. Huumetilanne Suomessa 2010.

<https://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/79963/979ec427-0e86-4a05-84ba-21cef2c40200.pdf?sequence=1>

Gustafsson, C. 2011. Tilastotieteen perusteet.

<http://lipas.uwasa.fi/~chg/Tilastotieteen%20perusteet%20luentorunko.pdf>

Heikkilä, T. 2014. Kvantitatiivinen tutkimus.

<http://www.tilastollinentutkimus.fi/1.TUTKIMUSTUKI/KvantitatiivinenTutkimus.pdf>

Hirzel, A. 2017. Antibody guide: A comparison between polyclonal and monoclonal.

<http://www.abcam.com/protocols/a-comparison-between-polyclonal-and-monoclonal>

Huume- ja lääkeaineseulonta. 2017.

http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6705;id=16504

Huumeseulonta 2015. Huumeseulonta (virtsaasta).
http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=5974;id=13733

Huumeseulonta 2016. Huumeseulonta (virtsaasta)
<http://oyslab.fi/ohjekirja/4221.html>

Jaarinen, S., Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.

Jenkins, A., ym. 2016. Principles of forensic toxicology. 4. painos. Washington, DC: AACC-Press.

Kainulainen, H. 2016. Päihdelinkki.fi: Huumeet ja laki.
<https://www.paihdelinkki.fi/fi/tietopankki/tietoiskut/paihteet-ja-yhteiskunta/huumeet-ja-laki>

Klette, K., Wiegand, R., Horn, C., Stout, P., Magluilo, J. 2015. Urine Benzodiazepine Screening using Roche Online® KIMS Immunoassay with β -Glucuronidase Hydrolysis and Confirmation by Gas Chromatography-Mass Spectrometry.
<https://academic.oup.com/jat/article/29/3/193/744723/Urine-Benzodiazepine-Screening-using-Roche-OnlineR>

Kaufman, K. 2002. 510(k) Summary.
https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf2/K021512.pdf

Lehtonen, L. 2006. Suositus huumetestauksen suorittamisesta.
[http://www.labquality.org/LQ/Pdf.aspx?dir=1&path=B\)%202008%20Labquality-paivat%20Lehtonen_suositus_huumetestauksen_suorittamisesta.pdf&type=file&vuosi=2009](http://www.labquality.org/LQ/Pdf.aspx?dir=1&path=B)%202008%20Labquality-paivat%20Lehtonen_suositus_huumetestauksen_suorittamisesta.pdf&type=file&vuosi=2009)

Lehtonen, P., Sihvonen, M-L. 2004. Laboratorioalan analyttinen kemia. 1. painos. Helsinki: Opetushallitus.

Leinonen, A. Huumetestauksen tekniikkaa, 2013.
http://www.skky.fi/sites/skky.fi/files/Leinonen_Huumetestauksen%20tekniikkaa.pdf

Mykkänen, S. 2006. Ohjeita huumetestaukseen työelämässä: kuvaus näytteenotosta sekä veri- ja virtsanäytteen keräys- ja lähetysohjeet.
https://www.thl.fi/documents/10531/998733/Ohje_tyolaman_huumetestaus_2015_fi_oikeustoksikologia.pdf/d2752f20-59dc-4428-9cc0-2d03c8ee74d8

Mykkänen, S., Kuoppasalmi, K., Tissari, P., Henriksson, M. 2015. Suositus terveydenhoidollisesta huumetestauksesta.
https://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/126298/URN_ISBN_978-952-302-488-5.pdf?sequence=1

Petrie, M., Lynch, Kara., Wu, Alan., Steinhardt, A., Horowitz, G. 2012. Prescription Compliance or Illicit Designer Drug Abuse?
<http://clinchem.aaccjnls.org/content/clinchem/58/12/1631.full.pdf>

Päihdetilastollinen vuosikerta, 2016:

http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/131756/P%c3%a4ihdetilastollinen%20vuosikirja%202016_verkko.pdf?sequence=1

Päri, T. 2015. Amfetamiini ja sen johdannaiset, varmistus.
http://www.yml.fi/tuotekuvaus_show.php?tuotenro=619

Roche työohje, 2017.
<https://usdiagnostics.roche.com/en/documentation.html>

Schalkhammer, T. 2002. Analytical biotechnology. 1. painos. Basel: Bertelsmann Springer Publishing Group.

Seppälä, T., Kuoppasalmi, K., Lehtonen, L., Leinonen, A., Lillsunde, P., Mäki, A., Vuori, E., Vanhanen, A-R. Suositus huumetestauksen suorittamisesta. 2/2008, Moodi.

Smith, M., ym. 2016. Principles of forensic toxicology. 4. painos. Washington, DC: AACC-Press.

Tuomivaara, T. 2005. Tieteellisen tutkimuksen perusteet.
<http://www.mv.helsinki.fi/home/ttuomiva/Y125luku6.pdf>

UNODC. 2016. World drug report. Drug use and its health consequences.
<http://www.unodc.org/wdr2016/en/drug-use.html>

Risikko, P., Tuominen, I. 2008. Valtioneuvoston asetus huumausaineiden valvonnasta.
<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2008/20080548#Pidp450130224>

Varjonen, V. 2014. Huumetilanne Suomessa 2014.
http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/125568/THL_RAPO1_2015_web%20%281%29.pdf?sequence=1

Vilpas, P. 2014. Ohjeita kvantitatiiviseen tutkimukseen osa 1.
<https://wiki.metropolia.fi/download/attachments/86116000/Ohjeita%20kvantitatiiviseen%20tutkimukseen%20osa1.pdf?version=5&modification-Date=1410783246000&api=v2>

Yinon, J. 1995. Forensic applications of mass spectrometry. Florida, USA: CRC Press.